

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平8-504841

(43) 公表日 平成8年(1996)5月28日

|                           |      |         |
|---------------------------|------|---------|
| (51) Int.Cl. <sup>6</sup> | 識別記号 | 庁内整理番号  |
| C 0 8 B 37/00             | Z    | 7433-4C |
| A 6 1 L 27/00             | W    | 7019-4C |
| 31/00                     | C    | 7019-4C |
| C 0 8 B 37/08             |      | 7433-4C |

F I

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 69 頁)

(21) 出願番号 特願平6-502933  
 (86) (22) 出願日 平成5年(1993)7月5日  
 (85) 翻訳文提出日 平成7年(1995)1月4日  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP93/01727  
 (87) 国際公開番号 WO94/01468  
 (87) 国際公開日 平成6年(1994)1月20日  
 (31) 優先権主張番号 PD92A000121  
 (32) 優先日 1992年7月3日  
 (33) 優先権主張国 イタリア (IT)  
 (81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), JP, US

(71) 出願人 ミニステロ・デル・ユニベルシタ・エ・デルラ・リシエルカ・シエンティフィカ・エ・テクノロジカ  
 イタリア00144ローマ、ピアッツァ・ケネディ20番  
 (72) 発明者 ギュスチ、バオロ  
 イタリア、ピサ、ピア・サンタ・マリア137番  
 (72) 発明者 カッレガーロ、ランフランコ  
 イタリア、バドバ35020ポンテ・ディ・ブレント、ピア・プラービ35番  
 (74) 代理人 弁理士 青山 稔 (外1名)

(54) 【発明の名称】 相互貫入ポリマー網 (IPN) におけるヒアルロン酸およびその誘導体

## (57) 【要約】

ポリマー成分の1つが酸性多糖またはその半-合成誘導体である相互貫入ポリマー網 (IPN) からなる生体適合物質が提供される。この多糖はヒアルロン酸であってよく、第二のポリマー成分は非毒性、非発癌性の合成化学ポリマーであってよい。このエステルまたは塩は薬理的に活性な分子を用いて形成することができる。さらにIPNを製造するための方法が開示されている。IPNを構成する酸性多糖またはその誘導体および合成化学ポリマーを架橋するか、または合成化学ポリマーを酸性多糖上にグラフト化することができる。架橋またはグラフト化は、ラジカルを生成し得る化合物を用いてまたは酸性多糖および合成化学ポリマー上の官能基により達成することができる。IPNは、架橋またはグラフト化の前に形成することができる。IPN生体適合物質は、フィルム、膜、スポンジ、ヒドロゲル、誘導導管、糸、ガーゼまたは不織組織の形態であることができる。このようなIPN生体適合物質は、皮膚科学、泌尿器科学、整形外科、耳科学、顕微手術、耳神経学、機能性、外傷後および鼻洞内視鏡顕微手術、形成手術を含む生物医学お

よび衛生分野で、および心臓血管系において用いることができる。

## 【特許請求の範囲】

1. 成分の1つが酸性多糖またはその誘導体である相互貫入ポリマーネットワーク、IPNからなる生体適合物質。 2. 第二成分が合成化学ポリマーである請求項1に記載の生体適合物質。 3. 酸性多糖がヒアルロン酸である請求項1に記載の生体適合物質。 4. 酸性多糖の誘導体がヒアルロン酸エステルおよびヒアルロン酸塩からなる群から選択される一員である請求項1に記載の生体適合物質。 5. ヒアルロン酸エステルが100%ヒアルロン酸エステルまたは部分ヒアルロン酸エステルである請求項4に記載の生体適合物質。 6. 100%ヒアルロン酸エステルがヒアルロン酸のベンジルエステルおよびヒアルロン酸のエチルエステルからなる群から選択される一員であって、部分ヒアルロン酸エステルがヒアルロン酸の10%部分ベンジルエステル、ヒアルロン酸の25%部分ベンジルエステル、ヒアルロン酸の50%部分ベンジルエステル、ヒアルロン酸の75%部分ベンジルエステルからなる群から選択される一員である請求項5に記載の生体適合物質。 7. 誘導体が14個より少ない炭素原子の鎖長を有するアルコールを含有する部分または全エステルである請求項1に記載の生体適合物質。 8. ヒアルロン酸エステルまたは塩が薬理的に活性な分子を用いて形成される請求項4に記載の生体適合物質。 9. 薬理的に活性な分子が抗感染薬、抗生物質、抗菌薬、抗炎症薬、細胞増殖抑制薬、細胞毒薬、抗ウイルス薬、麻酔薬、殺菌薬、消毒薬からなる群から選択される一員である請求項8に記載の生体適合物質。 10. IPNを構成するポリマーが水性環境に可溶性である請求項1~9のいずれかに記載の生体適合物質。 11. IPNを構成するポリマーがジメチルスルホキシドに可溶性である請求項1~9のいずれかに記載の生体適合物質。 12. IPNを構成する酸性多糖および合成化学ポリマーを架橋するか、または該合成化学ポリマーを該酸性多糖上にグラフト化する請求項2に記載の生体適合物質。 13. 架橋またはグラフト化が、ラジカルを生成し得る化合物を用いて、または酸性多糖および合成化学ポリマー上の官能基により達成される請求項12に記載の生体適合物質。 14. 架橋またはグラフト化の前にIPNが形成される請求項13に記載の生体適合物質。 15. 架橋剤および酸性多糖またはその誘導体の存在下での単量体の重合により生体適合物質が形成される請求項12に記載の生体適合物質。 16. 合成化学ポリマーが非毒性かつ非発癌性である請求項2に記載の生体適合物質。 17. フィルム、膜、スポンジ、ヒドロゲル、誘導導管、糸、ガーゼおよび不織組織からなる群から選択される形態にある請求項1~16のいずれかに記載の生体適合物質。 18. 生物医学的および衛生領域における請求項17に記載の生体適合物質の使用。 19. 皮膚科学、泌尿器科学、整形外科、耳科学、顕微手術、耳神経学、機能性、外傷後および鼻洞内視鏡顕微手術、形成手術

における、および心臓血管系における請求項17に記載の生体適合物質の使用。

## 【発明の詳細な説明】

相互貫入ポリマー網 (IPN) におけるヒアルロン酸およびその誘導体

発明の背景 発明の分野 本発明は、成分の1つが酸性多糖またはその誘導体である相互貫入ポリマー網 (ネットワーク)、その調製法および生物医学的および衛生的応用のための生体適合物質としてのその使用に関する。 関連技術の説明 ヒアルロン酸 (HA) は、D-グルクロン酸およびN-アセチル-D-グルコサミンの交互の残基から構成される天然のヘテロ多糖である。この物質、これが得られた供給源によりおよびこれが如何に調製され分析されたかにより50,000~13,000,000の間の分子量を有する線状ポリマーである。天然においてヒアルロン酸は、細胞周囲ゲル、脊椎生物における結合組織の基礎物質 (ヒアルロン酸は主成分の1つである)、関節の滑液、硝子液、臍帯組織、および雄鶏のとさかに存在する。 限定された分子量を有するヒアルロン酸の特定分画は炎症活性を有さず、ゆえに傷治療を容易にするためまたは延髄内液を置換するためまたは関節内注射による関節痛理に対する治療において用い得ることが知られており、これは本出願人に譲渡された欧州特許番号0 138 572に開示されている。 また、酸のカルボキシ基の全てまたは一部がエステル化されているヒアルロン酸のエステル、ならびに医薬品および化粧品および生物分解性プラスチック材料におけるそれらの使用が知られており、これは同様に本出願人に譲渡された米国特許番号4,851,521および4,965,353に開示されている。 ヒアルロン酸の適用が床ずれ、傷および火傷を有する患者における治療を促進させ得ることは既知の事実である。傷治療の様々な段階におけるその役割は、Weigelら [「炎症反応および傷治療中の初期事象におけるヒアルロン酸およびフィブリンの役割のためのモデル」, J.Theor.Biol., 119: 219, 1986] により理論的モデルを用いて説明されている。 そのまままたは他のポリマーとの混合物において用いられるヒアルロン酸エステルまたは他の多糖のエステルからなる医学的、衛生的および医薬的応用のための生成物 (生体適合物質) を得ることを目的としていた研究は、様々な生成物の創製を導いた。これらには異なる密度 (1cm当たりの糸の数)、異なる次元およびデニール (糸9,000メートル当たりの重量) を有するガーゼ、フィルム、膜、ゲル、誘導導管などの組織が含まれる。フィルムのいくつかの例は、本出願人に譲渡された2つの特許、すなわち米国特許番号4,851,521および4,965,353において見られる。このような物質の使用は、それらの構築および使用のために成型系を使用することが不可能であることにより限定されている。 相互貫入ポリマー網、IPNは、両方が網状形態である2

つのポリマー（少なくともそれらの一方を、他方が隣接して存在する中で合成または架橋する）の密な組み合わせである。2つのポリマーの一方が網状形態（架橋）であって他方が線状ポリマー（非架橋）であるなら、結果として半-IPNが得られる[L.H.Sperling,「相互貫入ポリマー網」, CHEMTECH, February, 1988]。IPNの用語は現在、混合物中の2つのポリマーが必ずしも共に結合していないがその成分が物理的に関係している新しい物質を包含している。明らかにこれら新規物質は、容易に分解可能なポリマーに対して物理的、機械的および製造可能な性質を与える可能性を開き、それらの機械的性質と新しい生物学的性質を結合させ得る新規物質を創製する。新規に開発されたIPNおよびその応用の例が報告されており、その中で2つの成分の一方は水可溶性ポリマーである[米国特許番号4,678,468および4,747,953]。しかし、医学、衛生および医薬分野で使用するための天然に存在するポリマーおよび合成ポリマーからなるIPNは新規であり、本発明に至った。

#### 発明の要旨

本発明の目的は、成分の一方が酸性多糖またはその誘導体である相互貫入ポリマー網、IPNからなる生体適合物質を提供することである。該酸性多糖はヒアルロン酸であってよく、第二のポリマー成分は非毒性、非発癌性合成化学ポリマーであってよい。該誘導体は全体的または部分的ヒアルロン酸エステルまたはヒアルロン酸塩であってよい。該エステルまたは塩は薬理学的に活性な分子を用いて形成させることができる。また、本発明のIPNの製造方法を開示する。本発明の別の目的は、該IPNを構成している該酸性多糖および該合成化学ポリマーが架橋しているか、または該合成化学ポリマーが該酸性多糖上に接合（グラフト化）しているIPNを提供することである。架橋または接合は、ラジカルを生成し得る化合物の使用により、または該酸性多糖および該合成化学ポリマー上の官能基により得ることができる。該IPNは架橋または接合の前に形成させることができ、天然ポリマー上への合成ポリマーの接合または2つのポリマーの間の分子間架橋によりその中の天然および合成ポリマーの間に強力な相互作用を保持する。本発明のさらに別の目的は、フィルム、膜、スポンジ、ヒドロゲル、誘導導管、糸、ガーゼおよび不織布からなる群から選択された形態で該IPNを提供することである。本発明のさらに別の目的は、皮膚科学、泌尿器科学、整形外科、耳科学顕微手術、耳神経学、機能性、外傷後および鼻洞内視鏡顕微手術、形成外科における、心臓血管系における、そしてそれらの性質が有用であるあらゆる他の型の手術におけるそれらの使用を含む生物医学的および衛生的分野における該IPNの使用である。本発明のIPNは、通常のIPNに比較して特別な、改善された化学的および物理的特性を保持している。これら生体適合物質は、IPNの2成分のうちの1つとして用いられる

多糖、ヒアルロン酸またはそのエステル誘導体の生物学的適合性の特性、ならびにIPNの2つのポリマー性成分の第二物質として用いられる化学的ポリマーの機械的特性を保持する。本発明において有用であるヒアルロン酸エステルに関して、これらエステルを単独で用いるかまたは他の活性本体、例えば抗感染薬、抗生物質、抗菌物質、抗炎症薬、細胞増殖抑制薬、細胞毒性物質、抗ウイルス薬、麻酔薬、殺菌薬および消毒薬などの治療的薬物と共に用いることができる。本発明において有用な化学ポリマーに関して、生体適合物質として既に用いられているあらゆる物質を用いて以下に開示するIPNを製造することができる。このような化学ポリマーは、G.W.Hastings[「高分子生体適合物質」, CRC Press, 1984]およびS.D.Bruck[「生理学的環境における生体適合物質の特性」, CRC Press, 1980]が開示している。このような合成ポリマーの使用を限定する唯一の因子は、それらが非毒性で非発癌性でなければならないことである。単に例示する目的のために、本発明に従ったIPNの製造を説明するいくつかの実施例を以下に提示する。本発明の適用可能性のなお一層の範囲は、以下に提供する詳細な説明から明らかとなるであろう。しかし、この詳細な説明から本発明の意図および範囲内の様々な変化および修飾が当業者に明らかとなるであろうから、詳細な説明および具体的な実施例は、本発明の好ましい態様を示すものである一方で、説明のためのみに与えられていることは理解されるところである。

本発明の詳細な説明 以下に示す本発明の詳細な説明は、当業者が本発明を実施する際の手助けとなるよう提供されている。たとえそうであっても、当業者により本発明の意図または範囲からそれることなく本明細書中で議論される態様における修飾および変形がなされるであろうから、以下に示す詳細な説明は本発明を不当に限定するものと解釈すべきではない。本明細書中で引用する各参考文献の内容は、その全体が本明細書の一部を構成するものとする。本発明のIPNにおいて有用なヒアルロン酸分画の調製 実施例1 炎症活性を有さないヒアラスチン(hyalastine)およびヒアレクチン(hyalactin)の混合物の調製方法 新鮮なまたは凍結した雄鶏とさか(3000g)を、肉ひき機で細かく刻み、次いで機械的ホモジナイザーで注意深くホモジナイズする。このようにして得られたペーストをステンレス鋼容器AISI 316またはガラス器具に入れ、10容量の無水アセトンで処理する。この全体を50rpmの速度で6時間攪拌する。12時間放置して分離させ、アセトンをサイホンで吸って捨てる。捨てたアセトンが正しい湿度(Karl-Fischer法)に達するまでアセトン抽出を繰り返す。次いで全体を遠心分離して適当な温度で5~8時間、真空乾燥する。この方法で、約500~600gの乾燥粉末雄鶏とさかが得られる。乾燥粉末(3000g)を、水性条件下、適当な量の塩酸システインの存

在下、リン酸緩衝液で緩衝されたパパイン(0.2g)を用いた酵素消化に暴露する。得られた物質は、温度を60~65℃の一定に保ち60rpmで24時間攪拌する。次いでこれを25℃に冷却してCelite<sup>R</sup>(60g)を加え、攪拌をさらに1時間維持する。得られた混合物を、透明な液体が得られるまで濾過する。次いでこの透明な液体を、分子量が30,000より大きい分子を膜上に保持するために分子排除限界30,000を有する膜を用いた分子限外濾過にかけ、限外濾過中の生成物に継続的に蒸留水を加えながら、生成物を元の5~6容量から限外濾過する。添加水を懸濁し、容量が元の容量の1/3に減少するまで限外濾過を続ける。残りの液体を、塩化ナトリウムの添加により0.1Mにして温度を50℃にする。60rpmでの攪拌下に塩化セチルピリジニウム(45g)を加える。これを60分間攪拌し、次いでCelite<sup>R</sup>(50g)を加える。攪拌下で、全体の温度を25℃にして遠心分離により生成した沈殿物を集める。得られた沈殿物を0.05%塩化セチルピリジニウムを含有する塩化ナトリウムの0.01M溶液(5L)中に懸濁する。得られた懸濁液を50℃で60分間攪拌し、次いで温度を25℃にして沈殿物を遠心分離する。洗浄操作を3回繰り返し、次いで沈殿物を0.05%塩化セチルピリジニウムを含有する塩化ナトリウムの0.05M溶液(3L)を含有する容器に集める。これを60rpmで60分間攪拌し、温度を2時間25℃の一定に保つ。上清を遠心分離により除去する。この方法を、0.05%塩化セチルピリジニウムを含有する0.1M塩化ナトリウムの溶液を用いて数回繰り返す。この混合物を遠心分離して上清を捨てる。沈殿物を0.05%塩化セチルピリジニウム(3L)を含有する0.30M塩化ナトリウムの溶液中に分散させる。この混合物を攪拌して沈殿物と透明な液体の両方を集める。抽出を沈殿物についてさらに3回(各回とも同じ水溶液(0.5L)を用いる)繰り返す。最後に、沈殿残渣を除去して透明な液体を全て1個の容器に共に入れる。液体の温度を、一定攪拌の下で50℃にする。次いで、液体を塩化ナトリウムで0.23Mにする。塩化セチルピリジニウム(1g)を加えて、12時間攪拌を維持する。混合物を25℃に冷却し、次いで最初にCelite<sup>R</sup>バック上で、次いでフィルターで濾過する。次いでこれを分子排除限界30,000を有する膜上の分子限外濾過に再びかけて、0.33M塩化ナトリウムの溶液の添加により最初の容量の3倍を限外濾過する。塩化ナトリウム溶液の添加を中断して容量を最初の容量の1/4に減少させる。このようにして濃縮した溶液を25℃の攪拌(60rpm)の下で3容量のエタノール(95%)を用いて沈殿させる。沈殿物を遠心分離により集めて上清を捨てる。沈殿物を0.01M塩化ナトリウム(1L)中に溶解し、3容量の95%エタノールを用いて沈殿を繰り返す。沈殿物を集めて最初に75%エタノール(3回)、次いで無水エ

タノール(3回)、最後に無水アセトン(3回)で洗浄する。このようにして得られた生成物(HYALASTINE+HYALECTIN分画)は250,000~350,000の平均分子量を有している。HAの収率は元の新鮮な組織の0.6%である。実施例2  
実施例1に記載の方法により得た混合物由来のヒアラスチン分画の調製方法 実施例1に記載の方法により得た混合物を蒸留非発熱性水中に、生成物10mgに対して水各1mlの割合で溶解する。得られた溶液を、分子排除限界200,000を有する濾過膜による分子濾過、次いで水を添加しない膜上での濃縮法に暴露する。分子排除限界200,000を有する膜による限外濾過法の間、200,000より大きい分子量を有する分子は通過せず、より小さい分子は水と共に膜を通過する。濾過法の間、容量が減少するように水を添加せず、ゆえに200,000より大きな分子量を有する分子の濃縮が増大する。膜の上端にあった容量が最初の容量の10%に減少するまで生成物を限外濾過する。非発熱性の2回蒸留水の2容量を加え、次いでこれを容量が1/3に減少するまで再び限外濾過する。この操作をさらに2回繰り返す。膜を通過した溶液を塩化ナトリウムで0.1Mにし、次いで4容量の95%エタノールで沈殿させる。沈殿物を75%エタノールで3回洗浄し、次いで真空乾燥する。このようにして得られた生成物(HYALASTINE分画)は、50,000~100,000の平均分子量を有している。HAの収率は元の新鮮組織の0.4%に等しい。適当な限外濾過膜およびゲル濾過クロマトグラフィーを用いることにより、平均分子量155,000を有するヒアルロン酸を同様に得ることができる。実施例3 ヒアレクチン分画を得る方法 実施例2に記載したように分子排除200,000を有する限外濾過膜の上端の容器に集めた濃縮溶液を、グルクロン酸の量に基づいた定量分析により測定した場合にヒアルロン酸5mg/mlを含有する溶液が得られるまで水で希釈する。溶液を塩化ナトリウム中で0.1Mにし、次いで4容量の95%エタノールで沈殿させる。この沈殿物を75%エタノールで3回洗浄し、次いで真空乾燥する。このようにして得られた生成物(HYALECTIN分画)は500,000~730,000の平均分子量を有する。これは、純度の高い限定された分子鎖長約2.500~3.500糖単位を有する特定分画に対応する。HAの収率は元の新鮮組織の0.2%に等しい。実施例4 ヒアルロン酸のテトラブチルアンモニウム塩の製造 HAナトリウム塩(10m当量)(4.02g)を蒸留水(400ml)に溶解する。次いでこの溶液を、テトラブチルアンモニウム型のスルホン樹脂(Dowex 50X8)(15ml)を含有する、4℃の恒温カラムにおいて溶離する。ナトリウムを含まない溶離物を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 6.18g。実施例5 ヒアルロン酸(HA)およびポリアクリル酸(PAA)のフィ

ルムの製造 HA (MW155,000) (20mg) を50℃の温度で30分間の振盪により蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得たHAの1%溶液を溶液Aと称する。PAA (MW250,000) (80mg) を50℃の温度で12時間の振盪により蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得たPAAの1%溶液を溶液B1と称し、これを放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液B1にゆっくり加える。振盪を1時間続けて2成分を完全に融合させる。

重量比20/80のHA/PAAの混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃に設定した通風オープンに入れる。溶媒が蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例6 ヒアルロン酸 (HA) およびポリビニルピロリドン (PVP) のフィルムの製造 HA (MW155,000) (20mg) を50℃の温度で30分間の振盪により蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得たHAの1%溶液を溶液Aと称する。PVP (MW40,000) (80mg) を50℃の温度で5時間の振盪により蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得たPVPの1%溶液を溶液B2と称し、これを放置して室温に冷却する。室温で振盪しながら溶液Aを溶液B2にゆっくり加える。この溶液を1時間浸透して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/PVPの混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃に設定した通風オープンに入れる。溶媒が蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例7 ヒアルロン酸 (HA) およびポリアクリルアミド (PAAm) のフィルムの製造

HA (MW155,000) (20mg) を50℃の温度で30分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得たHAの1%溶液を溶液Aと称する。PAAm (MW  $5 \times 10^6$ ) (80mg) を50℃の温度で12時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得たPAAmの1%溶液を溶液B3と称し、これを放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液B3にゆっくり加える。この溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/PAAmの混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃に設定した通風オープンに入れる。溶媒が蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例8 ヒアルロン酸 (HA) および酸化ポリエチレン (PEO) のフィルムの製造

HA (MW155,000) (20mg) を50℃の温度で30分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得たHAの1%溶液を溶液Aと称する。

PEO (MW100,000) (80mg) を50℃の温度で12時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得たPEOの1%溶液を溶液B4と称し、これを放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液B4にゆっくり加える。この

溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/PEOの混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。

実施例9 ヒアルロン酸 (HA) およびモウイオール (Mowiol) (ビニルアルコール-ビニルアセート共重合体、MOW) のフィルムの製造

HA (MW155,000) (20mg) を50℃の温度で30分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得たHAの1%溶液を溶液Aと称する。

MOW (MW127,000) (80mg) を50℃の温度で12時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得たMOWの1%溶液を溶液B5と称し、次いでこれを放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液B5にゆっくり加える。

この溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/MOWの混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。

実施例10 ヒアルロン酸 (HA) およびポリビニルアルコール (PVA) のフィルムの製造

HA (MW155,000) (20mg) を50℃の温度で30分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得たHAの1%溶液を溶液Aと称する。

PVA (MW115,000) (80mg) を還流冷却系および磁気攪拌装置を有し、蒸留水 (8ml) を含有するフラスコに入れる。このフラスコを150℃の温度の油浴に入れ、5時間振盪する。

PVAが完全に溶解したら、溶液B6と称するPVAの1%溶液が得られ、これを放置して室温に冷却する。室温での一定振盪の下で溶液Aを溶液B6にゆっくり加える。

この溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/PVAの混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に溶解したら、透明で均一なフィルムが得られる。

実施例11 ヒアルロン酸 (HA) およびポリホスファゼン (polyphosphazene)、例えばポリ- (トリフルオロエトキシ) ホスファゼン (PFI) のフィルムの製造

HA (MW155,000) (20mg) を50℃の温度で30分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得たHAの1%溶液を溶液Aと称する。

PFI (MW15,000) (80mg) を50℃の温度で12時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得たPFIの1%溶液を溶液B7と称し、これを放置して室温に冷却する。

室温で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液B7にゆっくり加える。この溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/PFIの混合物を含有する溶液を、

ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した

通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。 実施例 12 ヒアルロン酸 (HA) およびポリホスファゼン、例えばポリ (ジ (p-ソジオ (sodio) スルホキシフェノキシ) ホスファゼン) (PF2) のフィルムの製造 HA (MW155,000) (20mg) を 50℃ の温度で 30 分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得た HA の 1% 溶液を溶液 A と称する。 PF2 (MW 15,000) (80mg) を 50℃ の温度で 12 時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得た PF2 の 1% 溶液を溶液 B8 と称し、これを放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液 A を溶液 B8 にゆっくり加える。この溶液を 1 時間振盪して 2 成分を完全に融合させる。重量比 20/80 の HA/PF2 の混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃ の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。以下に示す実施例は、ヒアルロン酸および水可溶性ポリマーの混合物の凍結乾燥によるスポンジの製造を説明する。 実施例 13 ヒアルロン酸 (HA) およびポリアクワル酸 (PAA) を含有する凍結乾燥スポンジの製造 HA (MW155,000) (20mg) を 50℃ の温度で 30 分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得た溶液 A と称する HA の 1% 溶液を放置して室温に冷却する。 PAA (MW250,000) (80mg) を 50℃ の温度で 12 時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得た溶液 B1 と称する PAA の 1% 溶液を、放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液 A を溶液 B1 にゆっくり加える。この溶液を 1 時間振盪して 2 成分を完全に融合させる。重量比 20/80 の HA/PAA の混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、凍結乾燥装置に入れる。大気圧で -30℃ に凍結し、次いで真空下 (0.015mbar)、-20℃ で 24 時間加熱することにより凍結乾燥を行う。凍結乾燥工程が完了したときに、軟らかい白色のスポンジ状物質が得られる。 実施例 14 ヒアルロン酸 (HA) およびポリビニルピロリドン (PVP) を含有する凍結乾燥スポンジの製造 HA (MW155,000) (20mg) を 30 分間、50℃ の温度で蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得た溶液 A と称する HA の 1% 溶液を放置して室温に冷却する。 PVP (MW40,000) (80mg) を 50℃ の温度で 12 時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得た溶液 B2 と称する PVP の 1% 溶液を、放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液 A を溶液 B2 にゆっくり加える。この溶液を 1 時間振盪して 2 成分を完全に融合させる。重量比 20/80 の HA/PVP の混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、凍結乾燥装置に入れる。大気圧で -30℃ に

凍結し、次いで真空下 (0.015mbar)、-20℃ で 24 時間加熱することにより凍結乾燥を行う。凍結乾燥工程が完了したときに、軟らかい白色のスポンジ状物質が得られる。 実施例 15 ヒアルロン酸 (HA) およびポリアクリルアミド (PAAm) を含有する凍結乾燥スポンジの製造 HA (MW155,000) (20mg) を 50℃ の温度で 30 分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得た溶液 A と称する HA の 1% 溶液を放置して室温に冷却する。 PAAm (MW  $5 \times 10^6$ ) (80mg) を 50℃ の温度で 12 時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得た溶液 B3 と称する PAAm の 1% 溶液を、放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液 A を溶液 B3 にゆっくり加える。この溶液を 1 時間振盪して 2 成分を完全に融合させる。重量比 20/80 の HA/PAAm の混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、凍結乾燥装置に入れる。大気圧で -30℃ に凍結し、次いで真空下 (0.015mbar)、-20℃ で 24 時間加熱することにより凍結乾燥を行う。凍結乾燥工程が完了したときに、軟らかい白色のスポンジ状物質が得られる。 実施例 16 ヒアルロン酸 (HA) および酸化ポリエチレン (PEO) を含有する凍結乾燥スポンジの製造 HA (MW155,000) (20mg) を 50℃ の温度で 30 分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得た溶液 A と称する HA の 1% 溶液を放置して室温に冷却する。 PEO (MW100,000) (80mg) を 50℃ の温度で 12 時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。溶液 B4 と称する溶液が得られ、これを放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液 A を溶液 B4 にゆっくり加える。この溶液を 1 時間振盪して 2 成分を完全に融合させる。重量比 20/80 の HA/PEO の混合物を含有する溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、凍結乾燥装置に入れる。大気圧で -30℃ に凍結し、次いで真空下 (0.015mbar)、-20℃ で 24 時間加熱することにより凍結乾燥を行う。凍結乾燥工程が完了したときに、軟らかい白色のスポンジ状物質が得られる。 実施例 17 ヒアルロン酸 (HA) およびポリホスファゼン、例えばポリ (メトキシエトキシ) ホスファゼン (PF3) を含有する凍結乾燥スポンジの製造 HA (MW155,000) (20mg) を、50℃ の温度で 30 分間振盪しながら蒸留水 (2ml) に溶解する。このようにして得た溶液 A と称する HA の 1% 溶液を放置して室温に冷却する。 PF3 (MW15,000) (80mg) を 50℃ の温度で 12 時間振盪しながら蒸留水 (8ml) に溶解する。このようにして得た溶液 B5 と称する PF3 の 1% 溶液を、放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液 A を溶液 B5 にゆっくり加える。この溶液を 1 時間振盪して 2 成分を完全に融合させる。重量比 20/80 の HA/PF3 の混合物を

有する溶液を、ポリスチレンペトリ皿に注ぎ、凍結乾燥装置に入れる。大気圧で $-30^{\circ}\text{C}$ に凍結し、次いで真空下、 $-20^{\circ}\text{C}$ で24時間加熱することにより凍結乾燥を行う。凍結乾燥工程が完了したときに、軟らかい白色のスポンジ状物質が得られる。実施例18 ヒアルロン酸(HA)およびポリビニルアルコール(PVA)を含有するヒドロゲルの製造 HA (MW155,000)

(20mg)を、 $50^{\circ}\text{C}$ の温度で30分間振盪しながら蒸留水(2ml)に溶解する。このようにして得たHAの1%溶液を、溶液Aと称する。PVA (MW115,000) (320mg)を還流冷却系および磁気攪拌装置を有し、蒸留水(8ml)を含有するフラスコに入れる。このフラスコを振盪しながら $150^{\circ}\text{C}$ の温度の油浴に5時間入れる。PVAが完全に溶解したら、溶液Bと称するPVAの4%溶液が得られ、これを放置して室温に冷却する。室温で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液B(2ml)にゆっくり加える。重量比20/80のHA/PVAの混合物を含有する溶液をこの溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。HA/PVAの溶液をポリスチレンペトリ皿に注ぎ、5回の凍結-解凍サイクルに暴露する。各サイクルは、サンプルを室温から $-20^{\circ}\text{C}$ にもたらし、サンプルをこの温度で1時間保持し、室温に戻すことによりサンプルを解凍し、室温で1時間保持することによりサイクルを完了することからなる。2回目のサイクルまでに、溶液はすでにゼラチン状の外観を有し、その粘稠度は以降のサイクルにより上昇する。5回目のサイクルの終了時点で、サンプルは均一な白色のゴム状の粘稠度を有し、その含水量は約60%である。以下に示す実施例は、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解したヒアルロン酸(HA)とDMSOに可溶性のポリマーの混合物からの溶媒の蒸発によるフィルムの製造を説明するものである。実施例19

ヒアルロン酸(HA)およびポリビニルアルコール(PVA)を含有するフィルムの製造 HAをDMSOに以下のように溶解する: HA (MW155,000) (100mg)を、室温で30分間振盪しながら蒸留水に溶解する。次いで第二溶媒をこの溶液に加え、 $90^{\circ}\text{C}$ に加熱して水を蒸発させることにより、水をDMSOで置換する。さらにDMSOを加えて溶液を最終容量10mlにする。このようにして得たDMSO中のHAの1%溶液を実施例15~17における溶液Aと称する。PVA (100mg)を $100^{\circ}\text{C}$ の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得たPVAの1%溶液を溶液Bと称する。 $100^{\circ}\text{C}$ の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Bにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/PVAの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンペトリ皿に注ぎ、 $75^{\circ}\text{C}$ の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルム

が得られる。実施例20 ヒアルロン酸(HA)および低エチレン含量(29モル%)を有するClarene L6、Solvay (C1 L6)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 L6 (100mg)を1時間振盪しながらDMSOに溶解し、最終容量10mlにする。溶液Cと称するC1 L6の1%溶液が得られる。 $70^{\circ}\text{C}$ の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Cにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/C1 L6の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンペトリ皿に注ぎ、 $75^{\circ}\text{C}$ の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例21 ヒアルロン酸(HA)および中エチレン含量(36モル%)を有するClarene P10、Solvay (C1 P10)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 P10 (100mg)を $70^{\circ}\text{C}$ の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、最終容量10mlにする。このようにして得られたC1 P10の1%溶液を溶液Dと称する。 $70^{\circ}\text{C}$ の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Dにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/C1 P10の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンペトリ皿に注ぎ、 $75^{\circ}\text{C}$ の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例22

ヒアルロン酸(HA)および高エチレン含量(40モル%)を有するClarene R20、Solvay (C1 R20)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 R20 (100mg)を $70^{\circ}\text{C}$ の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、最終容量10mlにする。このようにして得られたC1 R20の1%溶液を溶液Eと称する。 $70^{\circ}\text{C}$ の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Eにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/C1 R20の混合物を含有する溶液を、ポリスチレンペトリ皿に注ぎ、 $75^{\circ}\text{C}$ の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例23

ヒアルロン酸(HA)およびポリウレタン(PU)、Cardiomat 610、contronを含有するフィルムの製造 テトラヒドロフラン: ジオキサン(1:1)中のPUの15%溶液(0.670ml)を、 $70^{\circ}\text{C}$ の温度で1時間振盪しながらDMSO(8ml)に溶解する。出発溶媒が蒸発したら、DMSOを用いて溶液を最終容量10mlにする。このようにして得られたPUの1%溶液を溶液Fと称する。 $70^{\circ}\text{C}$ の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Fにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/PUを含有する得られた溶液を、ポリスチレン



ペトリ皿に注ぎ、75℃に設定した通風オーブンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例24 ヒアルロン酸(HA)およびポリ乳酸(PLA)を含有するフィルムの製造 PLA(100mg)を85℃の温度で1時間振盪しながらDM

SOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたPLAの1%溶液を溶液Gと称する。85℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Gにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHA/PLAの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンペトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オーブンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。IPNにおけるヒアルロン酸エステル誘導体の使用 本発明のIPNは、ヒアルロン酸だけではなく、ヒアルロン酸のエステル誘導体を用いても製造することができる。このようなエステルの製造は米国特許番号4,851,521に開示されている。本発明において有用なヒアルロン酸のエステル誘導体は、ヒアルロン酸のカルボキシル基の全て(いわゆる「全体エステル」)または一部のみ(いわゆる「部分エステル」)がエステル化されている脂肪族、アル脂肪族(araliphatic)、シクロ脂肪族または複素環式アルコールを有するヒアルロン酸のエステル、および部分的エステルの金属または有機塩基との塩であり、薬理学的観点から生物学的適合性または許容し得るものである。有用なエステルには、それ自体注目値する薬理学的作用を保持するアルコールから得られるエステルが含まれる。脂肪族列の飽和アルコールまたはシクロ脂肪族列の単純アルコールが本発明において有用である。カルボン酸基の一部が遊離のままである(すなわち、部分エステル)上記のエステルにおいて、これらを金属または有機塩基、例えばアルカリもしくはアルカリ土類金属と共にまたはアンモニア用いては窒素を含む有機塩基で塩化することができる。本発明に従ったIPNにおいて使用するためのヒアルロン酸のカルボキシル基のエステル化成分として用いられる脂肪族列のアルコールは、例えば最大14個の炭素原子を有するものであり、飽和または不飽和であってよく、さらに他の遊離の官能基または官能的に修飾された基、例えばアミン、ヒドロキシル、アルデヒド、ケトン、メルカプタン、またはカルボキシル基を用いて、またはこれら由来の基、例えばヒドロカルビルまたはジ-ヒドロカルビルアミン基(「ヒドロカルビル」の用語は炭化水素の一価のラジカル、例えば $C_nH_{2n+1}$ 型だけでなく、二価または三価のラジカル、例えば「アルキレン」、 $C_nH_{2n}$ または「アルキリデン」、 $C_nH_{2n}$ も示す)、エーテルまたはエステル基、アセタールまたはケタール基、チオエーテルまたはチオエステル基、およびエステル化カルボキシルまたはカルバミド基および1またはそれ以上のヒドロカルビル基、ニトリル基またはハロゲンで

置換されているカルバミドにより置換されていることもある。ヒドロカルビルラジカルを含有している上記の基の中で、これらが低級脂肪族ラジカル、例えば最大6個の炭素原子を有するアルキルであるのが好ましい。このようなアルコールは、炭素原子鎖において、ヘテロ原子、例えば酸素、窒素および硫黄原子により中断されていてよい。1または2個の該官能基で置換されているアルコールが好ましい。好ましく用いられる上記の群のアルコールは、最大14個、特に6個の炭素原子を有し、上記のアミン、エーテル、エステル、チオエーテル、チオエステル、アセタールまたはケタール基中のヒドロカルビル原子が最大4個の炭素原子を有するアルキル基を表し、またエステル化カルボキシルまたは置換カルバミド基においてヒドロカルビル基が同じ数の炭素原子を有するアルキルであり、アミンまたはカルバミド基が最大8個の炭素原子を有するアルキレンアミンまたはアルキレンカルバミド基であってよいアルコールである。これらアルコールの中で、特に好ましいものは飽和および不飽和アルコール、例えばメチル、エチル、プロピルおよびイソプロピルアルコール、n-ブチルアルコール、イソブチルアルコール、第三ブチルアルコール、アミル、ペンチル、ヘキシル、オクチル、ノニルおよびドデシルアルコール、および線状鎖を有するアルコール、例えばn-オクチルおよびドデシルアルコールである。この群の置換アルコールの中で、二価のアルコールはエチレングリコール、プロピレングリコールおよびブチレングリコール、三価のアルコール、例えばグリセリン、アルデヒドアルコール、例えばタルトロンアルコール、カルボキシルアルコール、例えば乳酸、例えばグリコール酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アミノアルコール、例えばn-アミノエタノール、アミノプロパノール、n-アミノブタノールおよびそれらのアミン官能基におけるジメチル化およびジエチル化誘導体、コリン、ピロリジニルエタノール、ピペリジニルエタノール、ピペラジニルエタノールおよびn-プロピルまたはn-ブチルアルコールの対応する誘導体、モノチオエチレングリコールまたはそのアルキル誘導体、例えばメルカプタン官能基におけるエチル誘導体が有用である。高級飽和脂肪族アルコールの中で、好ましいものはセチルアルコールおよびミリスチルアルコールであるが、本発明の目的のためには、1または2個の二重結合を有する高級不飽和アルコール、例えば特に多くの精油に含まれ、テルペンに対する親和性を有するもの、例えばシトロネロール、ゲラニオール、ネロール、ネロリドール、リナロール、ファルネソールおよびフィトールが特に重要である。不飽和低級アルコールの中で、アリルアルコールおよびプロパルギルアルコールを考慮する必要がある。アル脂肪族アルコールの中で、好ましいものは唯一のベンゼン残基を有し、脂肪族鎖が最大4個の炭素原子を有し、ベンゼン残基が1〜3個のメチルまたはヒドロキシル基によりまたはハロ



ゲン原子、特に塩素、臭素およびヨウ素により置換されていてもよく、脂肪族鎖が遊離のアミン基またはモノもしくはジメチル化アミン基を含む群から選択される1またはそれ以上の官能基により、またはピロリジンまたはピペリジン基により置換されていてもよいアルコールである。これらアルコールの中で、最も好ましいのはベンジルアルコールおよびエチルアルコールである。シクロ脂肪族または脂肪族-シクロ脂肪族列のアルコールはモノ-またはポリ環状炭化水素から得てよく、好ましくは最大14個の炭素原子を有してよく、非置換であってよく、そして1またはそれ以上の置換基、例えば上記のような脂肪族アルコールのための置換基を含有してよい。環状単環炭化水素から得られるアルコールの中で、好ましいものは最大12個の炭素原子を有するもの、好ましくは5~7個の炭素原子を有する環であり、これは例えば1~3個の低級アルキル基、例えばメチル、エチル、プロピルまたはイソプロピル基で置換されていてもよい。この群の具体的なアルコールとして、以下のものが最も好ましい：シクロヘキサノール、シクロヘキサジオール、1,2,3-シクロヘキサントリオールおよび1,3,5-シクロヘキサントリオール（フロログルシトール）、イノシトール、およびp-メタン由来のアルコール、例えばカルボメントール、メントールおよび $\alpha$ - $\gamma$ テルピネオール、1-テルピネオール、4-テルピネオールおよびピペリトール、または「テルピネオール」として知られるこれらアルコールの混合物、1,4-および1,8-テルピン。縮合環を有する炭化水素、例えばツヤノール、ピナンまたはコンファン（comphane）から得られるアルコールの中で、以下のものが好ましい：ツヤノール、サビノール、ピノール水和物、D-およびL-ボルネオールおよびD-およびL-イソボルネオール。本発明のエステルのために用いられる脂肪族-シクロ脂肪族多環状アルコールには、ステロール、コール酸およびステロイド、例えば性ホルモンおよびそれらの合成類似体、特にコルチコステロイドおよびそれらの誘導体が含まれる。ゆえに、コレステロール、ジヒドロコレステロール、エビジヒドロコレステロール、コプロスタノール、エビコプロスタノール、シトステロール、スチグマステロール、エルゴステロール、コール酸、デオキシコール酸、リトコール酸、エストリオール、エストラジオール、エキレニン、エキリン、およびそれらのアルキル化誘導体、ならびに17位におけるそれらのエチニルまたはプロピニル誘導体、例えば17 $\alpha$ -エチニル-エストラジオールまたは7 $\alpha$ -メチル-17 $\alpha$ -エチニル-エストラジオール、プログネロン、プレグナジオール、テストステロンおよびその誘導体、例えば17 $\alpha$ -メチルテストステロン、1,2-デヒドロテストステロンおよび17 $\alpha$ -メチル-1,2-デヒドロテストステロン、テストステロンおよび1,2-デヒドロテストステロンの17位でのアルキニル化誘導体、例えば17 $\alpha$ -エチニルテスト

ステロン、17 $\alpha$ -プロピニルテストステロン、ノルゲストレル、ヒドロキシプロゲステロン、コルチコステロン、デオキシコルチコステロン、19-ノルテストステロン、19-ノル-17 $\alpha$ -メチルテストステロンおよび19-ノル-17 $\alpha$ -エチニルテストステロン、抗ホルモン、例えばシプロテロン、コルチゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾン、プレドニソロン、フルオロコルチゾン、デキサメタゾン、ベタメタゾン、パラメタゾン、フルメタゾン、フルオシノロン、フルプレドニリデン、クロベタゾール、ベクロメタゾン、アルドステロン、デオキシコルチコステロン、アルファキソロン、アルファドロロンおよびボラステロンを使用することが可能である。本発明のエステルのためのエステル化成分としては以下のものが有用である：心臓作用性グルコシドのゲニン（アグリコン）、例えばジギトキシゲニン、ギトキシゲニン、ジゴキシゲニン、ストロファンチジン、チゴゲニンおよびサボニン。本発明に従い用いられる他のアルコールは、ビタミンのアルコール、例えばアクセロフトール、ビタミンD<sub>2</sub>およびD<sub>3</sub>、アノイリン、ラクトフラビン、アスコルビン酸、リボフラビン、チアミンおよびパントテン酸である。複素環状酸の中で、それらの線状または環状鎖が1またはそれ以上、例えば1~3個のヘテロ原子、例えば-O-、-S-、-N-、および-NH-により形成される群から選択されるヘテロ原子により中断されており、これらにおいて1またはそれ以上の不飽和結合、例えば二重結合が、特に1~3個存在するかもしれない、ゆえに芳香族構造を有する複素環化合物も含むなら、以下のものを上記のシクロ脂肪族または脂肪族-シクロ脂肪族アルコールの誘導体として考慮することができる。例えば、以下のものが挙げられる：フルフリルアルコール、アルカロイドおよび誘導体、例えばアトロピン、スコポラミン、シンコニン、ラ・シンコニジン、キニン、モルヒネ、コデイン、ナロルフィン、臭化N-ブチルスコポランモニウム、アジマリン；フェニルエチルアミン、例えばエフェドリン、イソプロテレノール、エピネフリン；フェノチアジン薬、例えばペルフェナジン、ピボチアジン、カルフェナジン、ホモフェナジン、アセトフェナジン、フルオフェナジンおよび塩化N-ヒドロキシエチルプロメタジン；チオキサンテン薬、例えばフルペンチキソール、クロペンチキソール；抗痙攣薬、例えばメプロフェンジオール；抗精神病薬、例えばオピプラモール；鎮吐薬、例えばオキシベンジル；鎮痛薬、例えばカルベチジンおよびフェノペリジンおよびメタドル；催眠薬、例えばエトドロキシジン；食欲抑制薬、例えばベンジドロールおよびジフェメトキシジン；マイナートランクライザー、例えばヒドロキシジン；筋弛緩薬、例えばシンナメドリン、ジフィリン、メフェネシン、メトカルバモール、クロルフェネシン、2,2-ジエチル-1,3-プロパジオール、グアイフェネシン、ヒドロシルアミド；冠血管拡張薬、例えばジピリダモールおよ

びオキシフェドリン；アドレナリン作動性効果遮断薬、例えばプロパノロール、チモロール、ピンドロール、ブプラノロール、アテノロール、メトプロロール、ブラクトロール；抗腫瘍薬、例えば6-アザウリジン、シタラビン、フロキシウリジン；抗生物質、例えばクロラムフェニコール、チアンフェニコール、エリスロマイシン、オレアンドマイシンおよびリンコマイシン；抗ウイルス薬、例えばイドクスウリジン；末梢血管拡張薬、例えばイソニコチニルアルコール；炭酸脱水酵素阻害物質、例えばスロカルピレート；抗喘息薬および抗炎症薬、例えばチアラミド；およびスルファミディックス (sulfamides)、例えば2-p-スルファニロノエタノール。いくつかの場合において、エステル基が2またはそれ以上の治療的に活性なヒドロキシル物質由来であるヒアルロン酸エステルは重要であり、天然の全ての可能な変異体を用いてもよい。特に重要であるのは、ヒドロキシルの性質を有する薬物由来の2つの型の異なるエステル基が存在し、残りのカルボキシル基が遊離状態であり、金属または塩基で塩化されており、あるいはさらにその塩基が、例えばエステル化成分と同じまたは類似の活性を有してそれ自体治療的に活性である物質である。特に、一方では抗炎症ステロイド、例えば既に挙げた物質のうちの1つ、また他方ではビタミンから、アルカロイドから、または抗生物質、例えば列挙した物質のうちの1つから得られるヒアルロン酸エステルを用いることが可能である。

**実施例25 本発明のヒアルロン酸エステルの製造方法方法A：** ヒアルロン酸のエステルを、カルボン酸のエステル化のための本質的に既知の方法、例えば触媒物質、例えば強力な無機酸または酸型のイオン交換物質の存在下で所望のアルコールを用いた、または無機もしくは有機塩基の存在下で所望のアルコール残基を導入し得るエーテル化剤を用いた遊離ヒアルロン酸の処理により製造することができる。エステル化剤として、文献において既知の物質、例えば特に様々な無機酸または有機スルホン酸、例えば水素酸のエステル、すなわちハロゲン化炭化水素、例えばヨウ化メチルまたはエチル、または中性スルホン酸エステルまたは炭化水素酸、アルファイト (alfite)、炭酸エステル、ケイ酸エステル、亜リン酸エステルまたはスルホン酸炭化水素、例えばメチルベンゼンまたはp-トルエン-スルホネートまたはメチルもしくはエチルクロロスルホネートを使用することが可能である。反応は適当な溶媒、例えばアルコール、好ましくはカルボキシル基に導入すべきアルキル基に対応する溶媒中で行うことができる。しかし、反応は非極性溶媒、例えばケトン、エーテル、例えばジオキサンまたは非プロトン性溶媒、例えばジメチルスルホキシド中に行ってもよい。塩基として、アルカリまたはアルカリ土類金属またはマグネシウムまたは銀酸化物の水和物または塩基性塩またはこれら金属のうちの1つ、例えば炭酸塩、および有機性塩の中では、第三窒化塩基、例えばピ

リジンまたはコリジンを使用することができる。塩基の代わりに、塩基性型のイオン交換物質を使用することもできる。別のエステル化法は、金属塩または有機窒化塩基との塩、例えばアンモニウムまたはアンモニウム置換塩を用いるものである。好ましくはアルカリまたはアルカリ土類金属の塩を用いるが、あらゆる他の金属塩を用いてもよい。エステル化物質はこの場合も上記の物質であり、同じ物質を溶媒に適用する。非プロトン性溶媒、例えばジメチルスルホキシドおよびジメチルホルムアミドを使用するのが好ましい。この方法に従い、または後述の他の方法に従い得られたエステルにおいて、部分エステルの遊離のカルボキシル基を、所望により本質的に既知の方法で塩化することができる。

**方法B：** 好ましくは非プロトン性有機溶媒中で、エーテル化剤を用いてヒアルロン酸の第四アンモニウム塩を処理することからなる方法により、ヒアルロン酸エステルを製造することができる。有機溶媒として、非プロトン性溶媒、例えばジアルキルスルホキシド、ジアルキルカルボキサミド、例えば特に低級アルキル・ジアルキルスルホキシド、特にジメチルスルホキシドおよび低級脂肪酸の低級アルキル・ジアルキルアミド、例えばジメチルまたはジエチル-ホルムアミドまたはジメチルまたはジエチルアセトアミドを用いるのが好ましい。しかしながら、必ずしも非プロトン性ではない他の溶媒、例えばアルコール、エーテル、ケトン、エステル、特に比較的低い沸点を有する脂肪族または複素環アルコールおよびケトン、例えばヘキサフルオロイソプロパノール、トリフルオロエタノールおよびN-メチルピロリドンを考慮することができる。反応は、好ましくは約0℃～100℃、特に約25℃～75℃の範囲の温度で、例えば約30℃で行う。エステル化は、好ましくは上記のアンモニウム塩に対するエステル化剤を、上記の溶媒の1つ、例えばジメチルスルホキシドに徐々に添加することにより行う。アルキル化剤として、上記の物質、特にハロゲン化炭化水素、例えばハロゲン化アルキルを用いることができる。出発第四アンモニウム塩として、炭素原子が好ましくは1～6個であるアルキル基を有する低級アンモニウム・テトラアルキレートを用いるのが好ましい。ほとんどは、テトラブチルアンモニウムのヒアルロン酸塩を用いる。ヒアルロン酸の金属塩、好ましくは上記のうちの1つ、特にナトリウムまたはカリウム塩を、水溶液中で第四アンモニウム塩基を有する塩化スルホン樹脂と反応させることによりこれら第四アンモニウム塩を製造することができる。既に説明した方法の1つの変形は、適当な溶液、例えばジメチルスルホキシド中に懸濁したヒアルロン酸のカリウムまたはナトリウム塩を、触媒量の第四アンモニウム塩、例えばテトラブチルアンモニウムのヨウ化物の存在下、適当なアルキル化剤と反応させることからなる。本発明の部分エステルにおいて非エステル化カルボキシル基を遊離のまま保持するか

または塩化することができる。このような塩の形成のために、生成物が向けられている塩の特徴に従い塩基を選択する。アルカリ金属、例えばカリウムおよび特にナトリウムおよびアンモニウム由来、アルカリ土類金属由来の無機塩、例えばカルシウムまたはマグネシウムまたはアルミニウム塩を形成することができる。特に重要なものは有機塩基、特に窒素と化合した塩基および、ゆえに脂肪族、アリール脂肪族、シクロ脂肪族または複素環アミンとの塩である。これらアンモニア塩は治療的に許容し得るが不活性なアミンから、または治療的作用を有するアミンから得ることができる。前者の中で、上記全ての脂肪族アミンを考慮すべきであり、例えば最大18個の炭素原子を有するアルキル基を有するモノ、ジ、およびトリ-アルキルアミンまたは脂肪族部分に同じ数の炭素原子を有するアリールアルキルアミン（ここでアリールとは1および3個のメチル基またはハロゲン原子またはヒドロキシル基により置換されていることもあるベンゼン基を意味する）である。また、塩を形成するための生物学的に不活性な塩基は、環状、例えば4~6個の炭素原子の環を有し、窒素、酸素および硫黄により形成される群から選択されるヘテロ原子により環が中断されていることもある単環状アルキレンアミン、例えばピペリジンまたはモルホリンであってよく、例えばアミンまたはヒドロキシル官能基、例えばアミノエタノール、エチレンジアミン、エフェドリンまたはコリンにより置換されていてもよい。また、部分エステル第四アンモニウム塩、例えば上記の数の炭素原子を有するテトラアルキルアンモニウムの塩および好ましくは第四アルキル基が1~4個の炭素原子を有する、例えばメチル基である型の塩を形成することが可能である。治療的作用が使用されるであろう生物学的に活性なアミンの中には、全ての窒素化および塩基性薬物、例えば以下の群に含まれる薬物が含まれる：アルカロイド、ペプチド、フェノチアジン、ベンゾジアゼピン、チオキサンテン、ホルモン、ビタミン、抗痙攣薬、抗精神病薬、鎮吐薬、麻酔薬、催眠薬、食欲抑制薬、精神安定薬、筋弛緩薬、冠血管拡張薬、抗腫瘍薬、抗生物質、抗菌薬、抗ウイルス薬、抗マラリア薬、炭酸脱水酵素阻害物質、非ステロイド性抗炎症薬、血管収縮薬、コリン作動薬、コリン拮抗薬、アドレナリン作動薬、アドレナリン拮抗薬および麻酔拮抗薬。本発明において挙げられる塩基性窒素化基を有する全ての薬物およびそのエステルの使用については、実施例として言及されるであろう。本発明の具体的な態様に従い、ヒアルロン酸エステルおよびそれらの塩を治療的に活性な物質のための優れた媒体として用いることができる。この目的のために、例えば治療的に許容し得るが生物学的に活性でない上記の物質を有する全体エステルまたは残りのカルボキシル基において塩化された部分エステルを有する部分エステル、上記の全てとアルカリ金属、例えばナトリウムの組み合わせを使用す

ることができる。これらは2つの成分を含有する組み合わせにより作成される上記の薬物である：成分(1)：薬理的に活性な物質、または2またはそれ以上の活性物質の組み合わせ；そして成分(2)：ヒアルロン酸とアルコールの部分もしくは全体エステル、または有機もしくは無機塩基とのこのような部分エステルの塩からなり、所望によりヒアルロン酸またはその無機もしくは有機塩基との塩が添加される担体。これら薬物において用いられるヒアルロン酸エステルは、エステル化アルコールが薬理的に活性ではない例えば上記のような単純脂肪族アルコールである上記の全ての物質である。エステルも薬理的に活性であるこの型の薬物は、例えば上記のような単純な脂肪族アルコールである。例えば薬理的作用を有するアルコールから得られる上記のエステルのうちの1つの場合の様に、エステルも薬理的に活性であるこの型の薬物は本発明のこの態様から除外されない。同様に、さらに本発明は成分(2)のエステルがさらに治療的に活性な塩基により塩化されているこの型の薬物も含む。これら塩基は、ヒアルロン酸エステル中に媒体化される同じ薬理的活性物質であるかもしれない、ゆえにこの場合における混合物は、以下に説明するように治療的に活性な塩基とのヒアルロン酸の部分エステルの塩をおそらく過剰な活性塩基成分(1)の存在下に含有する。他方で、媒体化物質が塩基性の性質を有しておらず、ヒアルロン酸エステル中の遊離のカルボキシル基が依然として治療的活性塩基により塩化される場合が本質的に存在するかもしれない。従って、媒体としてのヒアルロン酸エステルの使用は、(1)薬理的活性物質またはこのような物質の2またはそれ以上の組み合わせおよび(2)上で説明したヒアルロン酸エステルまたはその塩のうちの1つを含む上記の薬物の製造を可能にする。このような薬物において、HAの部分エステルを用いるなら、残りのカルボキシル基の可能な塩化を、好ましくは治療的に中性の無機または有機塩基を用いて、特にアルカリ金属、例えばナトリウムまたはアンモニウムを用いて行う。活性物質成分(1)または物質の対応する組み合わせが塩基性基を有する、例えばアミン基を含有する抗生物質であり、残存する遊離カルボキシル基を有するヒアルロン酸の部分エステルを用いるなら、対応する塩はカルボキシル基とこれら塩基性物質の間に形成する。ゆえに、新しい薬物は、特に薬理的に活性な塩基性の性質を有する物質で部分的および全体的に塩化されるヒアルロン酸の部分エステルを含む。上記のように、特に重要なものは、成分(1)が局所的使用のための薬理的に活性な物質である、本明細書中で開示される型の組み合わせ薬物である。局所的に適用される薬物に対する媒体としてのヒアルロン酸エステルの使用は、特に製品について角膜上皮との特定の適合性、ゆえにいかなる感作効果も有さない優れた許容性が観察されなければならない眼科学において有用である。さ

らに、薬物を弾力性-粘着性の特性を有する濃縮された溶液の形態または固体の形態で投与した場合に、完全に透明で角膜上皮上で粘着性である均一で安定なフィルムを達成し、薬物の延長されたバイオアベイラビリティを保証し、ゆえに遅滞効果を有する優れた調製物を呈することができる。このような眼科学的薬物は獣医学分野において、例えば現在化学療法薬を含有する眼科医の使用のための獣医学的特別品がないことを考慮した場合に特に価値がある。実際、ヒトの使用に向けられた調製物が通常用いられており、常に特定の範囲の作用を保証するものではなく、それらは処置を行わねばならない特定の条件を見込むものではない。例えば、これは牛、羊およびヤギを通常襲う感染症である感染性角結膜炎、急性カタル性結膜炎またはIBKのための治療における場合である。おそらくこれら3種のために特定の病因論因子が存在し、さらに具体的には：牛においては関与する主な微生物はMoraxella bovis (たとえウイルス性起源の他の病原体、例えばヒツジマイコプラズマ、リケッチアおよびクラミジア (Clamidiae)、およびヤギリケッチアにおけるRinotracheitis virusを排除すべきではないとしても) であると考えられる。病気はそれ自体急性型で現れ、急速に広がる傾向がある：初期段階において総合的症状は眼瞼痙攣、過剰な流涙、次いで膿状分泌物、結膜炎および角膜炎を特徴とし、熱、食欲および乳産生の減損を伴うことが多い。特に重篤なものは、角膜病変であり、これは最終段階においては角膜自体の穿孔を引き起こすことさえあり得る。病気の臨床的進行は数日から数週間まで異なる。広範に選択された化学療法薬を治療に用いて、局所的(ステロイド抗炎症薬と組み合わせることが多い)および全身的の両方で投与するが、これらの薬物には次のものが含まれる：テトラサイクリン、例えばオキシテトラサイクリン、ペニシリン、例えばクロキサシリンおよびベンジルペニシリン、スルホンアミド、ポリミキシンB(ミコナゾールおよびブレドニゾロンと組み合わせて)、クロラムフェニコール、チロシンおよびクロロマイセチン。これまで用いられていた眼科的調製物では涙分泌において抗生物質またはスルファミド(sulphamide)の治療的に有効な濃度を何らかの理由で得ることができなかったのも、該疾患の局所的治療は、見かけの単純性にもかかわらず、以前として未解決の問題である。これは、これら動物の頭の主に傾いた位置を考慮すると、溶液の場合によく理解することができるが、通常用いられる賦形剤は角膜表面に対する必要な粘着性の性質を保持していないから、さらに同じことが半固体の薬物についてもあてはまる。これは、薬物が通常十分高濃度の活性物質を有しておらず、該薬物の完全な分布を達成することができない(すなわち、分布勾配が存在する)ことを理由とする。眼病用の使用における通常のコリリウム(collirium)のこれらの欠点は、例えばSlatterら[Austr.Vet.J., 1982, 59(3), pp.69-72]

が開示している。本発明のエステルを用いてこれらの難点を克服することができる。眼病用薬物のための媒体としてのヒアルロン酸エステルの存在は、実際に活性物質のいかなる濃度勾配も有さず、ゆえに完全に均一であり、完全な透明性と角膜上皮に対する優れた粘着性を有し、いかなる感作効果も有さず、活性物質の優れた媒介を行いさらにおそらく遅滞効果を有する優れた調製物の製剤化を可能にする。該薬物の上記の性質は、無論、眼科学以外の分野でも活用することができる。皮膚科学において、粘膜の疾患において、例えば口内で用いてもよい。さらに、該薬物を用いて、経皮吸収の効果により、例えば座薬で全身性効果を得ることができる。これら全ての適用はヒトおよび獣医学の医学の両方において可能である。ヒトの医学において、新しい薬物は小児科における使用に特に適している。従って、本発明は特にこれらのあらゆる治療的応用を含む。簡潔にするために、これより、本発明に従う成分(1)の活性物質について言及するときには、1またはそれ以上の活性物質の組み合わせも含むことは理解されるであろう。最初に上記の成分(1)は、ヒトと獣医学的の医学の間の相違から始まり、次いで治療すべき器官または組織に関する様々な適用の領域を特定する、例えば局所的使用、眼科学、皮膚科学、耳鼻咽喉科学、婦人科学、脈管学、神経学、または局所的適用、例えば直腸適用により治療されるであろう内部器官のあらゆる型の病理学に関する様々な治療分野におけるその使用に関して規定することができる。また、ヒアルロン酸エステルの媒介作用は、薬物の適用部位への吸収を奨励するから、活性物質が局所的または鼻もしくは直腸吸収により、例えば鼻スプレーまたは口腔または咽頭用の吸入のための調製物によるだけではなく、経口または非経口経路により、例えば筋肉内、経皮または静脈内経路により作用する上記の型の薬物の組み合わせに適用される。従って、薬物は既に言及した分野に加えて、内科学、例えば心臓血管系の病理学、呼吸器系、消化器系、腎臓系の感染、内分泌学的性質の疾患、腫瘍学、精神医学などの医学の実際に全ての領域において適用することができ、ゆえに、それらの特定作用の観点からさらに分類することができ、それらはおそらく麻酔薬、鎮痛薬、抗炎症薬、傷治療薬、抗菌薬、アドレナリン作動薬および拮抗薬、細胞増殖抑制薬、抗リウマチ薬、抗高血圧薬、利尿薬、性ホルモン、免疫刺激薬および免疫抑制薬、例えばエステル化成分として用いられる治療的に活性なアルコール、または遊離カルボキシル基の塩化のために用いられる治療的活性塩基について既に開示されている活性を有する薬物のうちの1つである。また、本発明に従った上記の薬物の成分(1)は、多くの既知の薬物中に含有されるような2またはそれ以上の活性物質の組み合わせであってよい。眼科学の分野に関して、適応は例えば：縮瞳、抗炎症、傷治療および抗菌性効果であり得る。本発明に従う眼科的薬

物において用いられる薬理学的に活性な物質の例は：塩基性および非塩基性抗生物質、例えばアミノグリコシド、マクロライド、テトラサイクリンおよびペプチド、例えばゲンタマイシン、ネオマイシン、ストレプトマイシン、ジヒドロストレプトマイシン、カナマイシン、アミカシン、 Tobramycin、 Spectinomycin、 Erisomycin、 Oleanandomycin、 Carbomycin、 Spiramycin、 Oxiditetra-cyclin、 Ristetetracycline、 Bactracin、 Polymyxin B、 Gramisidine、 Corsicanin、 Chloramphenicol、 Rincamycin、 Bactomycin、 Nobethionin、 Ristocetin、 Clindamycin、 Anhydrotetrin B、 Griseofulvin、 Nystatin および可能なそれらの塩、例えば硫酸塩または硝酸塩、または該薬物のそれらの間でのまたは他の活性成分、例えば以下に示す薬物との組み合わせである。本発明に従い有利であるよう用いられる他の眼科薬は：他の抗感染薬、例えばジエチルカルバマジン、メベンダゾール、スルファメディックス (sulfamedics)、例えばスルファセタミド、スルファジアジン、スルfoisキサゾール、抗ウイルス薬および抗腫瘍薬、例えばヨードデオキシウリジン、アデニンアラビノシド、トリフルオロチミジン、アシクロビア、エチルデオキシウリジン、プロモビニルデオキシウリジン、5'-ヨード-5'-アミノ-2', 5'-ジデオキシウリジン；ステロイド抗炎症薬、例えばデキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾン、フルオロメトロン、メドリゾンおよび可能なそれらのエステル、例えばリン酸；非ステロイド抗炎症薬、例えばインドメサシン、オキシフェンブタゾン、フルルビプロフェン；傷治癒薬、例えば上皮増殖因子、EGF；局所麻酔薬、例えばベノキシネート、プロパライカインおよび可能なそれらの塩；コリン作動薬、例えばピロカルピン、メトコリン (methcholine)、カルボミルコリン、アセクリジン、フィソスチグミン、ネオスチグミン、デメカリウムおよび可能なそれらの塩；コリン拮抗薬、例えばアトロピンおよびそれらの塩；アドレナリン作動薬、例えばノルアドレナリン、アドレナリン、ナファゾリン、メトキサミンおよび可能なそれらの塩；アドレナリン拮抗薬、例えばプロパノロール、チモロール、ピンドロール、ププラノロール、アテノロール、メトプロロール、オクスプレノロール、ブクトロール、ブトキサミン、ソタロール、ブタスリン (butathrin)、ラベトロールおよび可能なそれらの塩である。単独またはそれらの中でもしくは皮膚科学における他の活性本体と組み合わせて用いられる活性物質の例は：治療薬物、例えば抗感染薬、抗生物質、抗菌薬、抗炎症、細胞増殖抑制、細胞毒性、抗ウイルス性、麻酔薬、および予防薬、例えば日焼け止め薬、脱臭薬、殺菌薬、消毒薬である。抗生物質の中で特に重要なものは：エリスロマイシン、バシトラシン、ゲンタマイシン、ネオマイシン、オーレオマイシン、グラミシジンおよびそれらの関連物

質；抗菌薬および消毒薬の中では：ニトロフルルゾン (nitroflurzone)、マフェナイド、クロロヘキシジンおよび8-ヒドロキシキノリンの誘導体および可能なそれらの塩；抗炎症薬の中では、上記全てのコルチコステロイド、例えばプレドニゾン、デキサメタゾン、フルメタゾン、クロベタゾール、トリアムシノロンアセトニド、ベタメタゾンおよびそれらのエステル、例えば吉草酸エステル、安息香酸エステル、ジブロピオン酸エステル；細胞毒性群の中では：フルオロウラシル、メトトレキサート、ポドフィリン；麻酔薬の中では：ジブカイン、リドカインおよびベンゾカインである。無論このリストは一部の例を与えるだけであり、文献中に開示される他のあらゆる薬物を用いることができる。皮膚科学において用いられるであろう薬物の組み合わせとして、様々な抗生物質、例えばエリスロマイシン、ゲンタマイシン、ネオマイシン、グラミシジン、ポリミキシンB、それらの中でのまたはこれらの抗生物質と抗炎症薬との組み合わせ、例えばコルチコステロイド、例えばヒドロコルチゾン+ネオマイシン、ヒドロコルチゾン+ネオマイシン+ポリミキシンB+グラミシジン、デキサメタゾン+ネオマイシン、フルオロメトロン+ネオマイシン、プレドニゾン+ネオマイシン、トリアムシノロン+ネオマイシン+グラミシジン+ナスタチン、または皮膚科学のための通常の調製物において用いられるあらゆる他の組み合わせが挙げられるであろう。無論、様々な活性物質の組み合わせはこの分野に限定されないが、上記の範囲の薬物の各々において、当分野の既知の医薬調製物のために既に使用されているものに類似した組み合わせを使用することは可能である。塩基性の性質を有する成分(1)の使用の上記の場合において、部分的ヒアルロン酸エステルを用いて形成される塩(後者を過度に用いるから)は様々な型であってよく、すなわち残りの全てまたは一部分のみのカルボキシル基を塩化することができ、これによりエステル-酸塩またはエステル-中性塩を生成する。遊離のまま保持されるであろう酸基の数は、特定のpHを有する薬物の調製に重要であろう。逆に、過剰な塩基性成分(1)を使用することができ、この場合ヒアルロン酸エステルにおいて利用可能な全てのカルボキシル基が塩基で塩化される。本発明の特定の態様に従い、既に単離されおそらく精製されている塩から出発するこの型の薬物を、治療すべき組織との接触により粘性および弾力性のある性質を特徴とする水溶液を形成する無定形の粉末としてそれらの固体無水状態で調製することができる。これらの特性は比較的強い希釈でさえ維持され、ゆえに上記の無水塩の代わりに、おそらく他の賦形剤または添加剤、例えばpHおよび浸透圧を調製するための他の鉱物塩を加えた水または食塩水中の多少濃縮された溶液を使用することが可能である。無論、ゲル、挿入物、クリームまたは軟膏の調製のための、他の賦形剤またはこれらの医薬調製物の通常の製剤にお

いて用いられる成分も含有する塩を使用することでもできる。しかし、本発明に従い、媒体としての治療的に活性または不活性な物質とのヒアルロン酸のエステルまたはそれらの塩を含有する薬物は単独で用いられる（可能な水性溶媒を除く）。さらに、本明細書中で開示される全ての型の薬物から入手可能な混合物、同じ薬物の混合物、さらに可能なヒアルロン酸エステルと遊離ヒアルロン酸の混合物またはそれらの塩、例えばナトリウム塩の混合物は本発明に含まれる。また、本発明に従う成分（1）は、2またはそれ以上のこのような薬物と可能な他の素因との組み合わせまたは混合物であってもよい。例えば、眼科学において、薬物を抗生物質または抗炎症物質および血管収縮薬またはいくつかの抗生物質、1またはそれ以上の抗炎症物質、または1またはそれ以上の抗生物質、散瞳もしくは縮瞳または傷治癒または抗アレルギー物質などと組み合わせてもよい。例えば、眼科薬の以下に示す組み合わせを用いてもよい：カナマイシン+フェニレフリン+リン酸デキサメタゾン；カナマイシン+リン酸ベタメタゾン+フェニレフリンまたは眼科学において用いられる他の抗生物質、例えばロリテトラサイクリン、ネオマイシン、ゲンタマイシンおよびテトラサイクリンとの同様の組み合わせ。ただ1つの活性物質成分（1）の代わりに活性物質の組み合わせを用いるなら、例えば上記のような塩基性活性物質とヒアルロン酸の部分エステル塩は、1またはそれ以上のこのような塩基性物質の混合塩、または上記の金属または塩基で塩化された多糖の特定数の他の酸基を有するこの型の可能な混合塩であってよい。例えば、ヒアルロン酸の部分エステルまたは分子分画ヒアラスチンまたはヒアレクチンのうちの1つの、薬理学的に不活性なアルコール、例えば低級アルカノールとの塩を調製することができ、この塩の特定の割合の酸基は抗生物質カナマイシンで塩化されており、別の割合のカルボキシル基は血管収縮薬フェニレフリンで塩化されており、さらに酸基の残りの割合は、例えば遊離であるかまたはナトリウムもしくは上記の他の金属のうちの1つで塩化されているであろう。さらに、1個の活性物質と前述の多糖エステル塩を含有する薬物について上で示したように、この型の混合塩を遊離ヒアルロン酸またはその分画またはそれらの金属塩と混合することができる。眼科学および皮膚科学のために説明した例の中で、上記の医学分野、例えば耳鼻咽喉科学、歯科学または内科学、例えば内分泌学において本発明に従いどの薬物を用いるべきかを類比により理解することができる。従って、このような調製物は、例えば抗炎症薬、血管収縮薬、または例えば眼科学について既に示したような血管収縮薬、ビタミン、抗生物質、例えば上で示したような薬物、ホルモン、化学療法薬、抗菌薬など、さらに皮膚科学における使用のために上で示したような薬物であってよい。薬理学的活性物質とヒアルロン酸エステルを組み合わせた薬物は、他の医薬

媒体、例えばヒアルロン酸エステルのみを含有する医薬調製物のために以下に示すような媒体を含有していてもよい。しかし、成分（1）および（2）の組み合わせを単一媒体としての成分（2）と共に含有する（水性溶媒などの可能な溶媒を除く）薬物を使用するのは好ましい。本発明の薬物の中で、各場合に従い、それらが適用される環境に適した酸度を有する、すなわち生理学的に許容し得るpHを有する薬物は特に重要である。例えばヒアルロン酸の部分エステルと塩基性活性物質の上記の塩におけるpHの調節は、その塩のおよび塩基性物質自体の多糖の量を適当に調節することにより行うことができる。ゆえに、例えばヒアルロン酸の部分エステルと塩基性物質の塩の酸度が高すぎるなら、過剰な遊離の酸基を上記の無機塩基、例えばナトリウムまたはカリウムまたはアンモニウムの水和物で中和することができる。方法Bしかしながら本発明のヒアルロン酸エステルは、カルボキシル基を有する酸性多糖のカルボン酸エステルの製造に通常は適用し得る第二の方法に従い、有利に製造することができる。この方法は、カルボキシル基を含有する酸性多糖の第四アンモニウム塩を、好ましくは非プロトン性有機溶媒中、エーテル化剤で処理することからなる。有機溶媒として、非プロトン性溶媒、例えばジアルキルスルホキシド、ジアルキルカルボキサミド、例えば特に低級アルキル・ジアルキルスルホキシド、特にジメチルスルホキシドおよび低級脂肪酸の低級アルキル・ジアルキルアミド、例えばジメチルもしくはジエチルホルムアミドまたはジメチルもしくはジエチルアセトアミドが好ましい。しかし、必ずしも非プロトン性ではない他の溶媒、例えばアルコール、エーテル、ケトン、エステル、特に比較的低い沸点を有する脂肪族または複素環式アルコールおよびケトン、例えばヘキサフルオロイソプロパノール、トリフルオロエタノールおよびN-メチルピロリドンを検討することができる。反応を好ましくは約0℃～100℃、特に約25℃～75℃の温度範囲で、例えば約30℃で行う。エステル化は、好ましくは上記のアンモニウム塩に対するエステル化剤を、上記の溶媒の1つ、例えばジメチルスルホキシドに徐々に添加することにより行う。アルキル化剤として、上記の物質、特にハロゲン化炭化水素、例えばハロゲン化アルキルを用いることができる。出発第四アンモニウム塩として、炭素原子が好ましくは1～6個であるアルキル基を有する低級アンモニウム・テトラアルキレートを用いるのが好ましい。ほとんどは、テトラブチルアンモニウムのヒアルロン酸塩を用いる。酸性多糖の金属塩、好ましくは上記のうちの1つ、特にナトリウムまたはカリウム塩を、水溶液中で第四アンモニウム塩基を有する塩化スルホン樹脂と反応させることによりこれら第四アンモニウム塩を製造することができる。酸性多糖のテトラアルキルアンモニウム塩は、溶離物を凍結乾燥することにより得ることができる。本発明の方法の出発化



合物として用いる酸性多糖のテトラアルキルアンモニウム塩は、低級アルキル、特に1~6個の炭素原子を有するアルキルから得ることができる。驚くべきことに、このような塩は上記の有機溶媒中で可溶性であることが判明し、この理由のために方法Bに従った酸性多糖のエステル化は特に容易であり高い収率を与える。従って、この種の方法を用いることによってのみ、エステル化すべき酸性カルボキシル基の数を正確に計ることができる。

既に説明した方法Bの1つの変形は、適当な溶液、例えばジメチルスルホキシド中に懸濁したカリウム塩または酸性多糖ナトリウムを、触媒量の第四アンモニウム塩、例えばテトラブチルアンモニウムのヨウ化物の存在下、適当なアルキル化剤と反応させることからなる。上記の本発明の特定のエステル化法のための出発塩の製造のための上記の金属によるHAの塩化は、本質的に既知の方法で、例えば計算した塩基量、例えばアルカリ水和物またはこのような金属の塩基性塩、例えば炭酸塩または重炭酸塩とHAを反応させることにより行う。本発明の部分エステルにおいて、所望の塩化の化学量論度を得るように塩基量を量って、全ての残りのカルボキシル基またはそれらの一部のみを塩化することができる。正確な塩化度により、広い範囲の異なる解離定数を有し、ゆえに溶液中または治療の適用時にその場で所望のpHを与えるエステルを得ることができる。本発明の生成物の中で、特に重要なものは上記のエステルおよびそれらの塩ならびに以下の説明的実施例に開示するものである。 ヒアルロン酸のベンジルおよびエチルエステルの製造 実施例26 ヒアルロン酸の全体ベンジルエステル(HYAFF11)の製造 単量体単位<sub>20</sub>の20m当量に対応する分子量170,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(12.4g)を、25℃でジメチルスルホキシド(620ml)に溶解する。臭化ベンジル(4.5g; 25m当量)およびヨウ化テトラブチルアンモニウム(0.2g)を加え、溶液を30℃で12時間保持する。得られた混合物を、一定の攪拌の下で酢酸エチル(3,500ml)に注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過して酢酸エチル(500ml)で4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のベンジルエステル生成物(9g)が得られる。エステル基の定量は、Siggia S.およびHanna J.G.,「官能基による定量的有機分析」,第4版, John WileyおよびSonsの169~172ページに開示されている方法に従い行う。別法では、分子量162,000を有するHAのカリウム塩(3g)をジメチルスルホキシド(200ml)に懸濁し;ヨウ化テトラブチルアンモニウム(120mg)および臭化ベンジル(2.4g)を加える。懸濁液を30℃で48時間の攪拌下に保持する。得られた混合物を、一定の攪拌下で酢酸エチル(1,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿物が生成し、これを濾過して酢酸エチル(150ml)で4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のベン

ジルエステル生成物(3.1g)が得られる。エステル基の定量は、Siggia S.およびHanna J.G.,「官能基による定量的有機分析」,第4版, John WileyおよびSonsの169~172ページに開示されている方法に従い行う。 実施例27 ヒアルロン酸の部分ベンジルエステル(HYAFF 11 p10), p25, p50およびp75)の製造 ヒアルロン酸の部分ベンジルエステル、HYAFF 11 p10, p25, p50およびp75は、上記の方法Bに開示したように製造することができる。エステル化は、適当な有機溶媒中でエーテル化剤で処理されたヒアルロン酸の第四アンモニウム塩にエステル化剤を徐々に加えることにより行う。また、エステル化のための出発塩を製造するためのヒアルロン酸の塩化および部分ベンジルエステル中の残りのカルボキシル基の塩化は方法Bに開示されている。 実施例28 ヒアルロン酸のエチルエステル(HYAFF 7)の製造 単量体単位<sub>20</sub>の20m当量に対応する分子量85,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(12.4g)を、25℃でジメチルスルホキシド(620ml)に溶解する。ヨウ化エチル(3.3g; 21.2m当量)を加え、溶液を30℃で12時間保持する。得られた混合物を、一定の攪拌の下で酢酸エチル(3,500ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過して酢酸エチル(500ml)で4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のエチルエステル生成物(8g)が得られる。エステル基の定量は、R.H.CundiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961)の方法を用いて行う。 実施例29 ヒアルロン酸(HA)の(部分)コルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エステル化カルボキシル基20%塩化カルボキシル基(Na)80%の製造 単量体単位<sub>20</sub>の10m当量に対応する分子量105,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。21-ブromo-4-プレグネン-17 $\alpha$ -オール-3,11,20-トリオン(0.850g; 2m当量)を加え、得られた溶液を30℃で24時間保持する。水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。次いで、この生成物を1%塩化ナトリウムを含有する水(300ml)に溶解し、この溶液を一定の攪拌の下でアセトン(1,500ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で2回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分コルチゾンエステル化合物(4.5g)が得られる。コルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、Brit



ish Pharmacopea, 1980, p.127に従い行う。実施例30 ヒアルロン酸(HA)の(部分)ヒドロコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エステル化カルボキシル基20%-塩化カルボキシル基(Na)80%の製造 単量体単位の20m当量に対応する分子量80,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。21-ブromo-4-プレグネン-11β,17α-ジオール-3,20-ジオン(0.850g; 2m当量)を加え、得られた溶液を30℃で24時間保持する。次いで水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。次いで、この生成物を1%塩化ナトリウムを含有する水(300ml)に溶解し、この溶液を一定の攪拌の下でアセトン(1,500ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で2回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分ヒドロコルチゾンエステル化合物(4.4g)が得られる。ヒドロコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980, p.224に従い行う。実施例31 ヒアルロン酸(HA)の(部分)フルオロコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エステル化カルボキシル基20%-塩化カルボキシル基(Na)80%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量80,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。9-フルオロ-21-ブromo-4-プレグネン-11β,17α-ジオール-3,20-ジオン(0.89g; 2m当量)を加え、得られた溶液を30℃で12時間保持する。次いで水(62ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。次いで、この生成物を1%塩化ナトリウムを含有する水(300ml)に溶解し、この溶液を一定の攪拌の下でアセトン(1,500ml)に注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で2回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分フルオロコルチゾン化合物(4.6g)が得られる。フルオロコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980, p.196に従い行う。実施例32 ヒアルロン酸(HA)の(部分)デソキシコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エステル化カルボキシル基20%-塩化カルボキシル基(Na)80%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量105,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。21-ブromo-4-プレグネン-3,20-ジオン(0.661g; 2m当量)を加え、得られた溶液を30℃で24時間保持する。水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。次いで、この生成物を1%塩化ナトリウムを含有する水(300ml)に溶解し、この溶液を一定の攪拌の下でアセトン(1,500ml)に注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で2回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分デソキシコルチゾンエステル化合物(4.5g)が得られる。デソキシコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980, p.137に従い行う。実施例33 ヒアルロン酸(HA)の(混合)エタノールおよびコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エタノールによるエステル化カルボキシル基80%-コルチゾン(C<sub>21</sub>)によるエステル化カルボキシル基20%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量70,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。ヨウ化エチル(1.25g; 8m当量)を加え、得られた溶液を30℃で12時間保持する。21-ブromo-4-プレグネン-17α-オール-3,11,20-トリオン(0.85g; 2m当量)を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。次いで水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、次いでこれを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の混合エタノールおよびコルチゾンエステル化合物(4.6g)が得られる。コルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従い行う。エトキシルの定量は、R.H.C undiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961)に従い行う。実施例34 ヒアルロン酸(HA)の(混合)エタノールおよびヒドロコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エタノールによるエステル化カルボキシル基80%-ヒドロコルチゾン(C<sub>21</sub>)によるエステル

HA)の(部分)デソキシコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エステル化カルボキシル基20%-塩化カルボキシル基(Na)80%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量105,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。21-ブromo-4-プレグネン-3,20-ジオン(0.661g; 2m当量)を加え、得られた溶液を30℃で24時間保持する。水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。次いで、この生成物を1%塩化ナトリウムを含有する水(300ml)に溶解し、この溶液を一定の攪拌の下でアセトン(1,500ml)に注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で2回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分デソキシコルチゾンエステル化合物(4.5g)が得られる。デソキシコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980, p.137に従い行う。実施例33 ヒアルロン酸(HA)の(混合)エタノールおよびコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エタノールによるエステル化カルボキシル基80%-コルチゾン(C<sub>21</sub>)によるエステル化カルボキシル基20%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量70,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。ヨウ化エチル(1.25g; 8m当量)を加え、得られた溶液を30℃で12時間保持する。21-ブromo-4-プレグネン-17α-オール-3,11,20-トリオン(0.85g; 2m当量)を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。次いで水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、次いでこれを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の混合エタノールおよびコルチゾンエステル化合物(4.6g)が得られる。コルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従い行う。エトキシルの定量は、R.H.C undiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961)に従い行う。実施例34 ヒアルロン酸(HA)の(混合)エタノールおよびヒドロコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エタノールによるエステル化カルボキシル基80%-ヒドロコルチゾン(C<sub>21</sub>)によるエステル

化カルボキシル基20%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量125,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。ヨウ化エチル(1.25g; 8m当量)を加え、この溶液を30℃で12時間保持する。21-ブromo-4-プレグネン-11β, 17α-ジオール-3,20-ジオン(0.85g; 2m当量)を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。次いで水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の混合エタノールおよびヒドロコルチゾンエステル化合物(4.6g)が得られる。ヒドロコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従い行う。エトキシルの定量は、R.H.CundiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961)に従い行う。実施例35 ヒアルロン酸(HA)の(混合)エタノールおよびフルオロコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エタノールによるエステル化カルボキシル基80%-フルオロコルチゾン(C<sub>21</sub>)によるエステル化カルボキシル基20%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量70,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。ヨウ化エチル(1.25g; 8m当量)を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。9β-フルオロ-21-ブromo-4-プレグネン-11β, 17α-ジオール-3,20-ジオン(0.89g; 2m当量)を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。次いで水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の混合エタノールおよびフルオロコルチゾンエステル化合物(4.6g)が得られる。フルオロコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従い行う。エトキシルの定量は、R.H.CundiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961)に従い行う。実施例36 ヒアルロン酸(HA)の(混合)エタノールおよびデソキシコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エタノールによるエステル化カルボキシル基80%-デソキシコルチゾン(C<sub>21</sub>)によるエステル化カルボキシル基20%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量70,000を有

するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。ヨウ化エチル(1.25g; 8m当量)を加え、得られた溶液を30℃で12時間保持する。21-ブromo-4-プレグネン-3,20-ジオン(0.661g; 2m当量)を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の混合エタノールおよびデソキシコルチゾンエステル化合物(4.6g)が得られる。デソキシコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従い行う。エトキシルの定量は、R.H.CundiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961)に従い行う。実施例37 ヒアルロン酸(HA)の(部分および混合)エタノールおよびデソキシコルチゾンエステル-デソキシコルチゾン(C<sub>21</sub>)によるエステル化カルボキシル基40%-塩化カルボキシル基(Na)40%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量125,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310ml)に溶解する。ヨウ化エチル(0.62g; 4m当量)を加え、得られた溶液を30℃で24時間保持する。21-ブromo-4-プレグネン-3,20-ジオン(0.85g; 2m当量)を加え、溶液を30℃で24時間保持する。次いで水(100ml)および塩化ナトリウム(5g)を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン(2,000ml)にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1(100ml)で3回およびアセトン(100ml)で3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の部分および混合エタノールおよびデソキシコルチゾンエステル化合物(4.5g)が得られる。デソキシコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従い行う。エトキシルの定量は、R.H.CundiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961)に従い行う。実施例38 ヒアルロン酸(HA)の(部分および混合)エタノールおよびコルチゾンエステル(C<sub>21</sub>)-エタノールによるエステル化カルボキシル基40%-コルチゾン(C<sub>21</sub>)によるエステル化カルボキシル基20%-塩化カルボキシル基(Na)40%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量125,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩(6.2g)を、25℃でジメチルスルホキシド(310

ml) に溶解する。ヨウ化エチル (0.62g; 4m当量) を加え、得られた溶液を30℃で24時間保持する。21-ブromo-4-プレグネン-17 $\alpha$ -オール-3,11,20-トリオン (0.85g; 2m当量) を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。次いで水 (100ml) および塩化ナトリウム (5g) を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン (2,000ml) にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1 (100ml) で3回およびアセトン (100ml) で3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の部分および混合エタノールおよびコルチゾン化合物 (4.5g) が得られる。コルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従う。エトキシルの定量は、R.H.CundiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961) に従う。実施例39 ヒアルロン酸 (HA) の (部分および混合) エタノールおよびヒドロコルチゾンエステル (C<sub>21</sub>) -エタノールによるエステル化カルボキシル基40%-ヒドロコルチゾン (C<sub>21</sub>) によるエステル化カルボキシル基20%-塩化カルボキシル基 (Na) 40%の製造 単量体単位の10m当量に対応する分子量70,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩 (6.2g) を、25℃でジメチルスルホキシド (310ml) に溶解する。ヨウ化エチル (0.62g; 4m当量) を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。21-ブromo-4-プレグネン-11 $\beta$ , 17 $\alpha$ -ジオール-3,20-ジオン (0.85g; 2m当量) を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。次いで、水 (200ml) および塩化ナトリウム (5g) を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン (2,000ml) にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1 (100ml) で3回およびアセトン (100ml) で3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の部分および混合エタノールおよびヒドロコルチゾンエステル化合物 (4.5g) が得られる。ヒドロコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従う。エトキシルの定量は、R.H.CundiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961) に従う。実施例40 ヒアルロン酸 (HA) の (部分および混合) エタノールおよびフルオロコルチゾンエステル (C<sub>21</sub>) -エタノールによるエステル化カルボキシル基40%-フルオロコルチゾン (C<sub>21</sub>) によるエステル化カルボキシル基20%-塩化カルボキシル基 (Na) 40%の製造 単量体単位の20m当量に対応する分子量65,000を有するHAテトラブチルアンモニウム塩 (6.2g) を、25℃でジメチルスルホキシド (310ml) に溶解する。ヨウ化エ

チル (0.62g; 4m当量) を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。9 $\alpha$ -フルオロ-21-ブromo-4-プレグネン-11 $\beta$ , 17 $\alpha$ -ジオール-3,20-ジオン (0.89g; 2m当量) を加え、この溶液を30℃で24時間保持する。次いで、水 (100ml) および塩化ナトリウム (5g) を含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌の下でアセトン (2,000ml) にゆっくり注ぐ。沈殿が生成し、これを濾過してアセトン/水5:1 (100ml) で3回およびエチルアセトン (100ml) で3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。標記の部分および混合エタノールおよびフルオロコルチゾンエステル (4.6g) が得られる。フルオロコルチゾンの定量は、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>のヒドロアルコール溶液による緩やかなアルカリ加水分解およびクロロホルムによる抽出の後に、British Pharmacopea, 1980に従う。エトキシルの定量は、R.H.CundiffおよびP.C.Markunas, Anal.Chem. 33, 1028-1030 (1961) に従う。実施例41 エタノールで部分的にエステル化されたヒアルロン酸 (HA) のストレプトマイシン塩-エタノールによるエステル化カルボキシル基75%-ストレプトマイシンによる塩化カルボキシル基25%の製造 硫酸ストレプトマイシン (243mg; 1m当量) を水 (20ml) に溶解する。この溶液を、OH<sup>-</sup>型の第四アンモニウム樹脂 (2ml) を含有する5℃の恒温カラム (Dowex 1 $\times$ 8) において溶離する。硫酸塩を含まない溶離液を5℃の温度の恒温容器に集める。HAの75%エチルエステルおよび25%ナトリウム塩 (1.6g; 非エステル化カルボキシルに関する単量体単位の1m当量に対応する) を水 (400ml) に溶解する。この溶液を、H<sup>+</sup>型のスルホン樹脂 (2ml) を含有する20℃の恒温カラム (Dowex 50 $\times$ 8) において溶離する。ナトリウムを含まない溶離液を攪拌下にストレプトマイシン塩基の溶液中に集める。得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 1.7g ストレプトマイシン標準と比較したB.Subtilis ATCC 6633についての微生物学的測定は、ストレプトマイシン塩基の重量で10.9%の含量を示し、これは理論的に算出された含量に対応している。実施例42 エタノールで部分的にエステル化されたヒアルロン酸 (HA) のエリスロマイシン塩-エタノールによるエステル化カルボキシル基75%-エリスロマイシンによる塩化カルボキシル基25%の製造 HAの75%エチルエステルおよび25%ナトリウム塩 (1.6g; 非エステル化カルボキシルに関する単量体単位の1m当量に対応する) を水 (400ml) に溶解する。この溶液を、H<sup>+</sup>型のスルホン樹脂 (2ml) を含有する20℃の恒温カラム (Dowex 50 $\times$ 8) において溶離する。ナトリウムを含まない溶離液に、エリスロマイシン塩基 (734mg; 1m当量) を加える。得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 2.1g 標準エリスロマイシンと比較したS.aureus ATCC 6538に

についての微生物学的測定は、エリスロマイシン塩基の重量で31.7%の含量を示し、これは理論的に算出された重量に対応している。実施例43 エタノールで部分的にエステル化されたヒアルロン酸(HA)のネオマイシン塩-エタノールによるエステル化カルボキシル基75%-ネオマイシンによる塩化カルボキシル基25%の製造 硫酸ネオマイシン(152mg; 1m当量)を水(20ml)に溶解する。この溶液を、OH<sup>-</sup>型の第四アンモニウム樹脂(2ml)を含有する5℃の恒温カラム(Dowex 1×8)において溶離する。硫酸塩を含まない溶離液を5℃の温度の恒温容器に集める。HAの75%エチルエステルおよび25%ナトリウム塩(1.6g; 非エステル化カルボキシルに関する単量体単位の1m当量に対応する)を水(400ml)に溶解する。この溶液を、H<sup>+</sup>型のスルホン樹脂(2ml)を含有する20℃の恒温カラム(Dowex 50×8)において溶離する。ナトリウムを含まない溶離液を攪拌下にネオマイシン塩基の溶液中に集める。得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 1.65g 標準ネオマイシンと比較したS.aureus ATCC 6538についての微生物学的測定は、ネオマイシン塩基の重量で6.1%の含量を示し、これは理論的に算出された値に対応している。実施例44 エタノールで部分的にエステル化されたヒアルロン酸(HA)のゲンタマイシン塩-エタノールによるエステル化カルボキシル基75%-ゲンタマイシンによる塩化カルボキシル基25%の製造 硫酸ゲンタマイシン(145mg)を水(10ml)に溶解する。この溶液を、OH<sup>-</sup>型の第四アンモニウム樹脂(2ml)を含有する5℃の恒温カラム(Dowex 1×8)において溶離する。硫酸塩を含まない溶離液を5℃の温度の恒温容器に集める。HAの75%エチルエステルおよび25%ナトリウム塩(1.6g; 非エステル化カルボキシルに関する単量体単位の1m当量に対応する)を水(400ml)に溶解する。この溶液を、H<sup>+</sup>型のスルホン樹脂(2ml)を含有する20℃の恒温カラム(Dowex 50×8)において溶離する。ナトリウムを含まない溶離液を攪拌下にゲンタマイシン塩基の溶液中に集める。得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 1.7g 標準ゲンタマイシンと比較したS.epidermidus ATCC 12228についての微生物学的測定は、ゲンタマイシン塩基の重量で6.50%の含量を示し、これは理論的に算出された値に対応している。実施例45 エタノールで部分的にエステル化されたヒアルロン酸(HA)のアミカシン塩-エタノールによるエステル化カルボキシル基75%-アミカシンによる塩化カルボキシル基25%の製造 アミカシン(147mg; 1m当量)を水(20ml)に溶解する。HAの75%エチルエステルおよび25%ナトリウム塩(1.6g; 非エステル化カルボキシルに関する単量体単位の1m当量に対応する)を水(400ml)に溶解する。この溶液を、H<sup>+</sup>型のスルホン樹脂(2ml)を含有す

る20℃の恒温カラム(Dowex 50×8)において溶離する。ナトリウムを含まない溶離液を攪拌下にアミカシン塩基の溶液中に集める。得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 1.70g 標準アミカシンと比較したS.aureus ATCC 29737についての微生物学的測定は、アミカシン塩基の重量で8.5%の含量を示し、これは理論的に算出された値に対応している。実施例46 エタノールで部分的にエステル化されたヒアルロン酸(HA)のカナマイシン塩-エタノールによるエステル化カルボキシル基75%-カナマイシンによる塩化カルボキシル基25%の製造 硫酸カナマイシン(146mg; 1m当量)を水(20ml)に溶解する。この溶液を、OH<sup>-</sup>型の第四アンモニウム樹脂(2ml)を含有する5℃の恒温カラム(Dowex 1×8)において溶離する。硫酸塩を含まない溶離液を5℃の温度の恒温容器に集める。HAの75%エチルエステルおよび25%ナトリウム塩(1.6g; 非エステル化カルボキシルに関する単量体単位の1m当量に対応する)を水(400ml)に溶解する。この溶液を、H<sup>+</sup>型のスルホン樹脂(2ml)を含有する20℃の恒温カラム(Dowex 50×8)において溶離する。ナトリウムを含まない溶離液を攪拌下にカナマイシン塩基の溶液中に集める。得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 1.5g B.SU btilliS ATCC 6633について標準カナマイシンと比較して行った微生物学的測定は、カナマイシン塩基の重量で7%の含量を示し、これは理論的に算出された含量に対応している。実施例47 エタノールで部分的にエステル化されたヒアルロン酸(HA)のピロカルピン塩-エタノールによるエステル化カルボキシル基75%-ピロカルピンによる塩化カルボキシル基25%の製造 塩酸ピロカルピン(245mg; 1m当量)を水(20ml)に溶解する。この溶液を、OH<sup>-</sup>型の第四アンモニウム樹脂(2ml)を含有する5℃の恒温カラム(Dowex 1×8)において溶離する。塩化物を含まない溶離液を5℃の温度の恒温容器に集める。HAの75%エチルエステルおよび25%ナトリウム塩(1.6g; 非エステル化カルボキシルに関する単量体単位の1m当量に対応する)を水(400ml)に溶解する。この溶液を、H<sup>+</sup>型のスルホン樹脂(2ml)を含有する20℃の恒温カラム(Dowex 50×8)において溶離する。ナトリウムを含まない溶離液を攪拌下にピロカルピン塩基の溶液中に集める。得られた溶液を直ちに凍結し、凍結乾燥する。収量: 1.89g 実施例48 n-プロパノールで部分的にエステル化されたヒアルロン酸(HA)のピロカルピン塩-n-プロパノールによるエステル化カルボキシル基85%-ピロカルピンにより塩化カルボキシル基15%の製造 塩酸ピロカルピン(245mg; 1m当量)を水(10ml)に溶解する。この溶液を、OH<sup>-</sup>型の第四アンモニウム樹脂(2ml)を含有する5℃の恒温カラム(Dowex 1×8)において溶離する。塩化物を含まない溶

離液を5℃の温度の恒温容器に集める。HAの85%プロピルエステルおよび15%テトラブチルアンモニウム塩(4.1g;非エステル化カルボキシルに関する単量体単位の1m当量に対応する)をジメチルスルホキシド(100ml)に溶解する。この溶液を、H<sup>+</sup>型の湿ったスルホン樹脂(2ml)を含有する20℃の恒温カラム(Dowex 50×8)において溶離する。溶離液を攪拌下にピロカルピン塩基の溶液中に集める。得られた溶液を酢酸エチル(600ml)で沈殿させる。この沈殿物を濾過し、酢酸エチル(200ml)で4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記に特徴を示した化合物(3.5g)を得る。以下に示す実施例は、DMSOに溶解したベンジルアルコールを用いたヒアルロン酸エステル(エステル化25%、HYAFF11 p25)とDMSOに可溶性のポリマーの混合物からの溶媒の蒸発によるフィルムの製造を説明するものである。DMSO中のHYAFF11 p25の溶液は次のように製造する:室温で30分間振盪しながらHYAFF11 p25(100mg)を蒸留水:DMSO 1:1に溶解する。次いで、第二溶媒をこの溶液に加えて全ての水が蒸発するまで溶液を90℃に加熱することにより水をDMSOと置換する。最後に、この溶液をDMSOで最終容量10mlにする。HYAFF11 p25の1%溶液をこのようにして得、これを実施例49~55における溶液Aと称する。実施例49 HYAFF11 p25およびポリビニルアルコール(PVA)を含有するフィルムの製造 PVA(100mg)を、100℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量を10mlにする。このようにして得たPVAの1%溶液を溶液Bと称する。100℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Bにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p25/PVAの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例50 HYAFF11 p25および低エチレン含量(29モル%)を有するClarene L6、Solvay (C1 L6)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 L6(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして溶液Cと称するC1 L6の1%溶液が得られる。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Cにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p25/C1 L6の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例51 HYAFF11 p25

および中エチレン含量(36モル%)を有するClarene P10、Solvay (C1 P10)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 P10(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたC1 P10の1%溶液を溶液Dと称する。80℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Dにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p25/C1 P10の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例52 HYAFF11 p25および高エチレン含量(40モル%)を有するClarene R20、Solvay (C1 R20)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 R20(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたC1 R20の1%溶液を溶液Eと称する。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Eにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p25/C1 R20の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例53 HYAFF11 p25およびポリウレタン(PU)、Cardiomat 610、Contronを含有するフィルムの製造 テトラヒドロフラン:ジオキサン(1:1)中のPUの15%溶液(0.670ml)を、70℃の温度で1時間振盪しながらDMSO(8ml)に溶解する。出発溶媒が蒸発したら、DMSOを用いて溶液を最終容量10mlにする。このようにして得られたPUの1%溶液を溶液Fと称する。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Fにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p25/PUの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例54 HYAFF11 p25およびポリ乳酸(PLA)を含有するフィルムの製造 PLA(100mg)を85℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたPLAの1%溶液を溶液Gと称する。85℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Gにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p25/PLAの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿

に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例55 HYAFF11 p25およびポリホスファゼン、例えばポリ(メトキシエトキシ)ホスファゼン(PF3)のフィルムの製造 PF3(100mg)を100℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたPF3の1%溶液を溶液Hと称する。100℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Hにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p25/PF3の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。以下に示す実施例は、DMSOに溶解したベンジルアルコールを用いたヒアルロン酸エステル(エステル化50%、HYAFF11 p50)とDMSOに可溶性のポリマーの混合物からの溶媒の蒸発によるフィルムの製造を説明するものである。DMSO中のHYAFF11 p50の溶液は次のように製造する：室温で30分間振盪しながらHYAFF11 p50(100mg)を蒸留水：DMSO 1：1に溶解する。次いで、DMSOをこの溶液に加えて水を蒸発させるために溶液を90℃に加熱することにより水をDMSOと置換する。最後に、この溶液をDMSOで最終容量10mlにする。DMSO中のHYAFF11 p50の1%溶液をこのようにして得、これを実施例56における溶液Aと称する。実施例56 HYAFF11 p50およびポリホスファゼン、例えばポリ(メトキシエトキシ)ホスファゼン(PF3)を含有するフィルムの製造 PF3(100mg)を100℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたPF3の1%溶液を溶液Bと称する。100℃の温度で振盪しながら溶液Aを溶液Bにゆっくり加える。この溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p50/PF3の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。以下に示す実施例は、DMSOに溶解したベンジルアルコールを用いたヒアルロン酸エステル(エステル化75%、HYAFF11 p75)とDMSOに可溶性のポリマーの混合物からの溶媒の蒸発によるフィルムの製造を説明するものである。室温で30分間振盪しながらHYAFF11 p75(100mg)をDMSOに溶解する。次いで、DMSOを加えて最終容量を10mlにする。HYAFF11 p75の1%溶液をこのようにして得、これを実施例57~62における溶液Aと称する。実施例57 HYAFF11 p75およびポリビニルアルコール(P

VA)を含有するフィルムの製造 PVA(100mg)を、100℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量を10mlにする。このようにして得たPVAの1%溶液を溶液Bと称する。100℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Bにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p75/PVAの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例58 HYAFF11 p75および低エチレン含量(29モル%)を有するClareneL6、Solvay(C1 L6)、エチレン-ビニル共重合体を含有するフィルムの製造 C1 L6(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、最終容量10mlにする。溶液Cと称するC1 L6の1%溶液がこのようにして得られる。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Cにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p75/C1 L6の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例59 HYAFF11 p75および中エチレン含量(36モル%)を有するClareneP10、Solvay(C1 P10)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 P10(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたC1 P10の1%溶液を溶液Dと称する。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Dにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p75/C1 P10を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら、透明で均一なフィルムが得られる。実施例60 HYAFF11 p75および高エチレン含量(40モル%)を有するClareneR20、Solvay(C1 R20)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 R20(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたC1 R20の1%溶液を溶液Eと称する。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Eにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF11 p75/C1 R20の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明

で均一なフィルムが得られる。実施例61 HYAFF F11 p75およびポリウレタン(PU)、Cardiomat 610、Contronを含有するフィルムの製造 テトラヒドロフラン:ジオキサン(1:1)中の15%PU溶液(0.670ml)を、70℃の温度で1時間振盪しながらDMSO(8ml)に溶解する。出発溶媒が蒸発したら、DMSOを用いてこの溶液を最終容量10mlにする。このようにして得られたPUの1%溶液を溶液Fと称する。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Fにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF F11 p75/PUの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例62 HYAFF F11 p75およびポリ乳酸(PLA)を含有するフィルムの製造 PLA(100mg)を85℃の温度で1時間連続的に振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量10mlにする。このようにして得られたPLAの1%溶液を溶液Gと称する。85℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Gにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF F11 p25/PLAの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。以下に示す実施例は、DMSOに溶解したベンジルアルコールを用いたヒアルロン酸エステル(エステル化100%、HYAFF F11)とDMSOに可溶性のポリマーの混合物からの溶媒の蒸発によるフィルムの製造を説明するものである。室温で30分間振盪しながらHYAFF F11(100mg)をDMSOに溶解する。次いで、DMSOを加えて最終容量を10mlにする。DMSO中のHYAFF F11の15%溶液をこのようにして得、これを実施例63~69における溶液Aと称する。実施例63 HYAFF F11およびポリビニルアルコール(PVA)のフィルムの製造 PVA(100mg)を、100℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、次いで最終容量を10mlにする。このようにして得たPVAの1%溶液を溶液Bと称する。100℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Bにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF F11/PVAの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例64 HYAFF F11および低エチレン含量(29モル%)を有するClarene L6、Solvay(C1 L6)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造

C1 L6(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、最終容量を10mlにする。溶液Cと称するC1 L6の1%溶液が得られる。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Cにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF F11/C1 L6の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例65 HYAFF F11および中エチレン含量(36モル%)を有するClarene P10、Solvay(C1 P10)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 P10(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、最終容量10mlにする。このようにして得られたC1 P10の1%溶液を溶液Dと称する。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Dにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF F11/C1 P10の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例66 HYAFF F11および高エチレン含量(40モル%)を有するClarene R20、Solvay(C1 R20)、エチレン-ビニルアルコール共重合体を含有するフィルムの製造 C1 R20(100mg)を70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解し、最終容量10mlにする。このようにして得られたC1 R20の1%溶液を溶液Eと称する。70℃の温度で連続的に振盪しながら溶液Aを溶液Eにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF F11/C1 R20の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例67 HYAFF F11およびポリウレタン(PU)、Cardiomat 610、Contronを含有するフィルムの製造 テトラヒドロフラン:ジオキサン(1:1)中のPUの15%溶液(0.670ml)を、70℃の温度で1時間振盪しながらDMSOに溶解する。出発溶媒が蒸発したら、DMSOを用いてこの溶液を最終容量10mlにする。このようにして得られたPUの1%溶液を溶液Fと称する。70℃の温度で振盪しながら溶液Aを溶液Fにゆっくり加える。得られた溶液を1時間振盪して2成分を完全に融合させる。重量比20/80のHYAFF F11/PUの混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃の温度に設定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。実施例68 HY

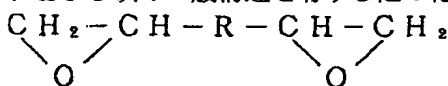


AF F 1 1 およびポリ乳酸 ( P L A ) を含有するフィルムの製造 P L A ( 1 0 0 m g ) を 8 5 ℃ の温度で 1 時間振盪しながら D M S O に溶解し、次いで最終容量 1 0 m l にする。このようにして得られた P L A の 1 % 溶液を溶液 G と称する。 8 5 ℃ 温度で連続的に振盪しながら溶液 A を溶液 G にゆっくり加える。得られた溶液を 1 時間振盪して 2 成分を完全に融合させる。 重量比 2 0 / 8 0 の H Y A F F 1 1 p 2 5 / P L A の混合物を含有する得られた溶液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、 7 5 ℃ の温度に設定した通風オーブンに入れる。溶媒が完全に蒸発したときに、透明で均一なフィルムが得られる。

**実施例 6 9** HYAFF 1 1 およびポリホスファゼン、  
例えばポリフェノキシホスファゼン (PF4) を含有す  
るフィルムの製造 PF4 (100mg) を 25℃ の温度  
で 1 時間振盪しながら DMSO に溶解し、最終容量 10  
ml にする。このようにして得られた PF4 の 1% 溶液を  
溶液 H と称する。 25℃ の温度で振盪しながら溶液 A  
を溶液 H にゆっくり加える。得られた溶液を 1 時間振盪  
して 2 成分を完全に融合させる。 重量比 20 / 80 の  
HYAFF 1 1 / PF4 の混合物を含有する得られた溶  
液を、ポリスチレンベトリ皿に注ぎ、75℃ の温度に設  
定した通風オープンに入れる。溶媒が完全に蒸発したら  
、透明で均一なフィルムが得られる。 予め形成された  
ポリマーの架橋 本発明の目的を達成するために、上記  
の実施例において製造される全てのポリマー混合物を、  
以下の方法によりさらに IPN または半-IPN に変換  
することができる。 **実施例 7 0** ラジカルを生成し得  
る化合物を用いたポリマーの架橋

ポリマー、例えば  $\text{—CH}_2\text{—C(R)H—}$   $\xrightarrow{\text{式中、RはH、ハロゲン、}}$   
 $\text{OCl}_2$ 、 $\text{COCl}$ 、 $\text{SO}_3\text{H}$ 、 $\text{COOH}$ 、または  $\text{COO}$   
 $\text{R'}$  であってよい]は、多くの過酸化物を用いて架橋す  
ることができる [Soloveyら, Bell System Tech. J., 40:  
1400, 1961]。操作温度は非常に高く、ポリマー分解を  
導く。脂肪族ポリエーテル、例えばポリエチレンオキ  
シドおよびポリプロピレンオキシドを、過酸化物を用い  
て架橋することができる [Y. Okada, J. Appl. Polym. Sci, 7  
: 695, 703 および 1153, 1963]。過酸化物を用いて、ポ  
リアミド、ポリスルホンおよびポリエステルを架橋す  
ることができる。過酸化物以外に、エチルトリクロロア  
セテート、 $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{—CCl}_3$ 、 $\text{R—S—S—R}$  などを用いて  
ラジカルを生成することができる。C—C二重結合を  
有する予め形成されたポリマーについて、「2 試薬系」を  
用いることができる：1つの試薬はラジカルを生じ、第  
二の試薬は二重結合の間の分子間架橋として作用する。  
その例は過酸化物-ジマレイミドである。 様々な官能  
基を有するポリマーの架橋 カルボキシル官能基：ポリ  
アクリル酸、ポリメタクリル酸およびアクリレート、メ  
タクリレート、スチレンおよび他のビニル単量体とのそ  
れらの共重合体、加水分解化無水マレイン酸およびソル  
ビン酸の共重合体を、ジアミン、トリアミン、ジ-およ

びポリイソシアネート、ジ、トリ-およびポリオール、カルボジイミドオキシラニック (oxiranic) 化合物およびホルムアルデヒドのN-メチロール誘導体を用いて架橋することができる。高温で、分子間の無水基の形成により架橋が起こり得る。 OH官能基：ポリビニルアルコールおよびエチレン、アクリレート、メタクリレート、 $\beta$ -ヒドロキシエチル-アクリレートとのその共重合体、スチレン- $\beta$ -ヒドロキシエチルアクリレートとの共重合体は、ホルムアルデヒド、ホルムアルデヒドのN-メチロール誘導体、カルボン酸の二ハロゲン化物、グリオキサール、グルタルアルデヒドおよび他の二アルデヒドにより架橋することができる。 ポリビニルアルコールなどの官能基を有する線状ポリマーまたはその共重合体の、ポリアクリルもしくはポリメタクリル酸との混合物は、分子間エステル化により架橋することができる [Y. Tatara, J. Polym. Sci. Symp. 54: 283, 1976]。-COOHおよび-OH基のための上記の試薬によりこれら混合物を架橋することができる。 セルロースに対して、以下の化合物を架橋試薬として用いた：尿素-ホルムアルデヒド、ジメチロール-尿素、環状エチレン-尿素的ビス-ジメチロール誘導体、および類似の化合物、例えばメチロール-テトラメチレン-尿素、イダントイン (idanthioin) の、イミザドリドン (imizadolidone) の、プロピレン-尿素およびトリアゾンのN-メチロール誘導体。他の有用な化合物は、グリオキサール、グルタルアルデヒド、 $\alpha$ -ヒドロキシシアジパルデヒド、および他のジアルデヒド、ジエポキシド、例えばシクロヘキセンジオキシド、および次の一般構造を有する他の化合物：



であり、これはエチレンアミン、スルホンおよび $\alpha$ -クロロエーテルにより誘導体化することができる。アミノ-尿素-ウレタン官能基： ジーおよびポリイソリアネートを用いてポリアミド、ポリ尿素およびポリウレタンを架橋することができる。混合物の両成分の架橋によりIPNおよび半-IPNを得る上記の方法以外に、さらに架橋剤の存在下および天然の酸性多糖またはその半合成エステル型誘導体の存在下での単量体の重合により半-IPNを得ることができる。例として、架橋剤としてのテトラエチレングリコールジメタクリレート（TEGDM）および開始物質としてのベンゾインの存在下で、大量のUV光重合法を用いて、多糖が溶解したメタ-メタクリレートの重合により半-IPNを得ることができる。本発明をこのように開示したが、本発明を多くの方法で改変することができることは明らかであろう。このような改変は本発明の意図および範囲から離脱するものとみなすべきではなく、当業者に明らかであろうこのような全ての修飾は以下に示す請求の範囲の範囲内に含まれることが意図されている。

【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 93/01727

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC5: C08B 37/00, C08B 37/08, A61L 15/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC5: C08B, A61L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | GB, A, 2151247 (BIOMATRIX INC.(USA-DELAWARE)),<br>17 July 1985 (17.07.85)<br>--    | 1-19                  |
| X         | GB, A, 2151246 (BIOMATRIX INC.(USA-DELAWARE)),<br>17 July 1985 (17.07.85)<br>--    | 1-19                  |
| X         | GB, A, 2151244 (BIOMATRIX INC.(USA-DELAWARE)),<br>17 July 1985 (17.07.85)<br>--    | 1-19                  |
| P,X       | EP, A1, 0544259 (LIGNYTE CO.,LTD.), 2 June 1993<br>(02.06.93), claim 1<br>--       | 1                     |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

27 October 1993

11. 11. 93

Name and mailing address of the International Searching Authority Authorized officer



European Patent Office, P.B. 3818 Patendaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 631 epo nl  
Fax (+31-70) 340-3014

GERD WRANNE

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 93/01727

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                    |                       |
|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category*                                             | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| P,A                                                   | EP, A1, 0526865 (FIDIA S.P.A.), 10 February 1993<br>(10.02.93), the claims<br>---  | 1-19                  |
| X                                                     | EP, A2, 0265116 (FIDIA SPA), 27 April 1988<br>(27.04.88), the claims<br>---        | 1-19                  |
| A                                                     | US, A, 4851521 (DELLA VALLE ET AL), 25 July 1989<br>(25.07.89)<br>---              | 1-19                  |
| A                                                     | US, A, 4678468 (T. HIROYOSHI), 7 July 1987<br>(07.07.87)<br>-----                  | 1-19                  |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

T/EP93/01727

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 18, 19  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 18, 19 relate to methods of treatment of the human or animal body by surgery or by therapy Rule 39(iv). Nevertheless, a search has been executed for these claims. The search has been based on the alleged effects of the compound(s)/composition(s).
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.6(s).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

77738

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
 Information on patent family members

01/10/93

International application No.

PCT/EP 93/01727

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|
| GB-A- 2151247                             | 17/07/85            | AU-B- 551704               | 08/05/86            |
|                                           |                     | AU-A- 3209284              | 20/06/85            |
|                                           |                     | CA-A- 1223383              | 23/06/87            |
|                                           |                     | DE-A,C- 3434123            | 27/06/85            |
|                                           |                     | FR-A,B- 2556732            | 21/06/85            |
|                                           |                     | JP-C- 1481351              | 10/02/89            |
|                                           |                     | JP-A- 60130538             | 12/07/85            |
|                                           |                     | JP-B- 63023223             | 16/05/88            |
| GB-A- 2151246                             | 17/07/85            | US-A- 4487865              | 11/12/84            |
|                                           |                     | AU-B- 551728               | 08/05/86            |
|                                           |                     | AU-A- 3209184              | 20/06/85            |
|                                           |                     | CA-A- 1218776              | 03/03/87            |
|                                           |                     | DE-A,C- 3434042            | 29/08/85            |
|                                           |                     | FR-A,B- 2556733            | 21/06/85            |
|                                           |                     | JP-A- 60130623             | 12/07/85            |
|                                           |                     | US-A- 4500676              | 19/02/85            |
| GB-A- 2151244                             | 17/07/85            | AU-B- 551628               | 08/05/86            |
|                                           |                     | AU-A- 3337984              | 20/06/85            |
|                                           |                     | CA-A- 1238043              | 14/06/88            |
|                                           |                     | DE-A,C- 3434082            | 11/07/85            |
|                                           |                     | DE-A,C- 3434104            | 29/08/85            |
|                                           |                     | FR-A,B- 2556728            | 21/06/85            |
|                                           |                     | JP-A- 60130501             | 12/07/85            |
| EP-A1- 0544259                            | 02/06/93            | AU-B- 636544               | 29/04/93            |
| EP-A1- 0526865                            | 10/02/93            | NONE                       |                     |
| EP-A2- 0265116                            | 27/04/88            | AU-B- 610087               | 16/05/91            |
|                                           |                     | AU-A- 7960087              | 21/04/88            |
|                                           |                     | CA-A- 1317287              | 04/05/93            |
|                                           |                     | JP-A- 63105003             | 10/05/88            |
|                                           |                     | US-A- 4957744              | 18/09/90            |
|                                           |                     | ZA-A- 8707559              | 13/04/88            |
| US-A- 4851521                             | 25/07/89            | AU-B- 591501               | 07/12/89            |
|                                           |                     | AU-A- 5983586              | 26/02/87            |
|                                           |                     | EP-A- 0216453              | 01/04/87            |
|                                           |                     | JP-A- 62064802             | 23/03/87            |
|                                           |                     | US-A- 4965353              | 23/10/90            |
|                                           |                     | US-A- 5202431              | 13/04/93            |
| US-A- 4678468                             | 07/07/87            | JP-A- 61045765             | 05/03/86            |